



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

IMPACTE DOS ESTROGÉNIOS NO AMBIENTE

Trabalho submetido por
Filipa Bento Soares Rento
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Doutora Ana Paula Ferreira

Setembro de 2013

AGRADECIMENTOS

O meu muito obrigado a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, bem como para a minha formação académica e enquanto pessoa. Um agradecimento especial à minha orientadora Ana Paula Ferreira, ajuda preciosa na elaboração desta dissertação; à minha família, amigos e colegas de faculdade.

Não posso deixar de agradecer ao Instituto pela formação académica de excelência que me proporcionou durante todos estes anos, bem como a todos os professores pelos ensinamentos que me transmitiram.

RESUMO

Tem sido realizado um considerável número de estudos para investigar a presença de fármacos no meio ambiente, tendo-se chegado à conclusão de que estes estão largamente disseminados no mesmo, havendo fortes evidências da sua interação com diversos organismos e dos efeitos prejudiciais a que dão origem.

De entre os diversos fármacos contaminantes do meio ambiente encontram-se os estrogénios, substâncias constituintes de vários métodos contraceptivos e que assumem cada vez mais importância devido ao elevado consumo na sociedade atual, sociedade na qual as questões relacionadas com a sexualidade e planeamento familiar se revelam cada vez mais importantes.

A libertação de estrogénios para o meio ambiente pode ser feita através de várias formas, principalmente através da excreção feita pela urina e pelas fezes, e através do descarte indevido de formas farmacêuticas que os contenham, como é o caso dos contraceptivos orais, anéis vaginais e sistemas transdérmicos, entre outros. Apesar destas hormonas estarem presentes no meio ambiente em concentrações mínimas, existem estudos que demonstram que são suficientes para provocar efeitos adversos em humanos e animais, tornando-se essencial a adoção de medidas para controlar este tipo de contaminação. Para além da identificação da sua presença nos ecossistemas e da sua origem enquanto fonte de contaminação, é também relevante a sua quantificação e clarificação dos métodos de tratamento atualmente disponíveis.

Palavras-chave: contaminantes ambientais, estrogénios, contraceptivos orais, desreguladores endócrinos.

ABSTRACT

A considerable number of studies have been performed to investigate the presence of pharmaceuticals in the environment, and it has been concluded that they are widely disseminated and there is strong evidence of its interaction with various organisms and harmful effects that give rise.

Among the several drugs that contaminate the environment we can find estrogens, constituent substances of contraceptive methods that are becoming increasingly important due to the high consumption in the current society, the society in which issues related to sexuality and family planning reveal themselves increasingly important.

The estrogen release to the environment can be done in several ways, mainly by excretion made by feces and urine, and through improper disposal of pharmaceutical dosage forms containing them as is the case of oral contraceptives, vaginal rings, and transdermal patches, among others. There are studies showing, that despite, these hormones are present in the environment at minimum concentrations, still being sufficient to cause adverse effects in humans and animals, making it essential to adopt measures to control this type of contamination. Apart from identifying its presence in ecosystems and their origin as a source of contamination, it is also relevant their quantification and clarification of the treatment methods currently available.

Keywords: environmental contaminants, estrogens, oral contraceptives, endocrine desregulators.

ÍNDICE

RESUMO	5
ABSTRACT	6
ÍNDICE	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
ÍNDICE DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS	10
I. INTRODUÇÃO	11
II. ESTROGÉNIOS: AGENTES CONTAMINANTES AMBIENTAIS?	15
II.1 Estrogénios naturais	15
II.2 Estrogénios sintéticos	17
II.2.1 Contracetivos orais	18
II.3 Os estrogénios e o sistema endócrino	21
II.4 Desreguladores endócrinos	24
III. EXPOSIÇÃO E IMPACTE AMBIENTAL	31
III.1 Vitelogenina	32
III.2 Métodos de deteção e quantificação	35
III.3 Tratamento e eliminação	37
III.3.1 Processo de Fenton	39
III.3.2 Ozonização	40
III.3.3 Fotocatálise	41
III.3.4 Foto Fenton	41
III.3.5 Oxidação fotoquímica	42
III.3.6 Fotólise com peróxido	42
III.4 VALORMED	43
IV. CONCLUSÃO	45
V. BIBLIOGRAFIA	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Biossíntese do 17 β -estradiol, Estrona e Estriol.....	16
Figura 2: Circuitos de contaminação das hormonas no sistema sanitário até alcançarem a água potável.....	24
Figura 3: Pontos de entrada dos estrogénios para o meio ambiente, até ao seu destino final.....	26
Figura 4: Mecanismo de desregulação endócrina.....	28
Figura 5: Programa desenvolvido pela EMA para avaliação do risco ambiental provocado por fármacos.....	30
Figura 6: Representação esquemática da síntese de vitelogenina em peixes machos, provocada pela exposição a estrogénios.....	33
Figura 7: Exemplo de um imunoensaio para deteção de substâncias estrogénicas.....	36
Figura 8: Funcionamento do processo VALORMED para as embalagens de medicamentos de uso humano.....	44

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Excreção urinária média diária de estrogénios por humanos	16
Tabela 2: Descrição da composição de estrogénios de acordo com a geração a que pertence o contraceptivo oral	19
Tabela 3: Concentrações médias de estrogénios a nível mundial, em esgotos domésticos, águas superficiais, de consumo e efluentes de ETARs	23
Tabela 4: Descrição dos três tipos de tratamento convencional numa ETAR.....	38
Tabela 5: Fases de tratamento numa ETAR.....	38
Tabela 6: Tipos de processos avançados de oxidação.....	39
Tabela 7: Resultados de estudos efetuados utilizando PAO na eliminação de estrogénios.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS

BSTFA	N,O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida
CG	Cromatografia gasosa
CGC/MS	Cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa
CGC/MS-MS	Cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa em tandem
CO	Contracetivos orais
DE	Desreguladores endócrinos
DES	Dietilestilbestrol
EMA	European Medicines Agency
ERA	Environmental Risk Assessment
ETAR	Estação de tratamento de águas residuais
FDA	Food and Drug Administration
FSH	Hormona folículo-estimulante
HPLC	Cromatografia líquida
HPLC/MS	Cromatografia líquida associada à espectrometria de massa
HPLC/MS-MS	Cromatografia líquida associada à espectrometria de massa em tandem
K _{OH}	Coeficiente de partição octanol-água
LH	Hormona luteinizante
MSTFA	N-Metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida
MTBSTFA	N-(tert-butildimetilsilil)-N-metil-trifluoroacetamida
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAO	Processos avançados de oxidação
US EPA	Environmental Protection Agency

I. INTRODUÇÃO

A preocupação humana quanto a questões relacionadas com o meio ambiente não é recente, tendo vindo a aumentar exponencialmente ao longo dos anos, em grande parte devido à crescente escassez dos recursos ambientais provocada pela poluição, tendo isto conduzido a uma consciencialização a nível mundial.

A responsabilidade por essa escassez e degradação crescente incide largamente no aumento populacional, desenvolvimento urbano, industrial e tecnológico, que têm contribuído ao longo dos anos para a contaminação de vários ecossistemas, afetando recursos hídricos, solos e atmosfera, conduzindo a uma necessidade urgente de se reverter este processo (Alvarenga e Nicoletti, 2010).

Os recursos hídricos são essenciais para a vida humana, sendo a água potável a base para a preservação da vida das gerações futuras e, consequentemente, vários estudos têm sido realizados para verificar e garantir a qualidade da mesma, de modo a evitar implicações na saúde humana (Reis Filho, Luvizotto-Santos e Vieira, 2007). Descobertas derivadas desses estudos têm demonstrado a presença de vários tipos de contaminantes, incluindo fármacos, em águas superficiais, subterrâneas e para consumo humano (Otomo, Martins, Souza, Furusawa e Pires, 2010; Carvalho, Ferreira, Mucini e Santos, 2009; Reis Filho et al., 2007; Yan, Lu, Liu e Jin, 2012).

Os primeiros relatos acerca da presença de fármacos no meio ambiente remontam a 1976, ano em que Hignite e Azarnoff descobriram a presença de ácido salicílico e ácido clofíbrico na estação de tratamento de águas residuais (ETAR) de um rio no Kansas, em Missouri. Desde então, a quantidade de publicações e estudos acerca da presença de fármacos nos ecossistemas tem aumentado, tentando-se perceber qual o seu potencial como poluentes, o seu impacte ambiental e efeitos sobre determinados organismos (Haguenoer et al., 2008).

O aumento do consumo de fármacos tem assumido cada vez mais relevância na nossa sociedade ao longo do tempo, tendo vindo a possibilitar o combate e prevenção de doenças, o aumento da longevidade e uma melhoria da qualidade de vida (Ueda, Tavernaro, Marostega e Pavan, 2009). No entanto, o aumento progressivo do seu consumo tem demonstrado inúmeras desvantagens para o meio ambiente. Têm-se observado efeitos prejudiciais provocados por estes compostos e os seus resíduos químicos, devido à sua libertação para o meio ambiente e consequente interferência com

os sistemas ecológicos (Lages, 2011; Pinto, 2011; Alvarega e Nicoletti, 2010). A juntar ao referido, observa-se ainda o facto de, segundo a literatura, existirem algumas dúvidas quanto à efetividade da remoção e eliminação destes compostos pelas ETARs, possibilitando a recirculação de resíduos tóxicos (Carvalho et al., 2009; Chambel, 2011; Reis Filho et al., 2007; Essandoh, Tizaoui e Mohamed, 2012).

Uma vez administrados, os fármacos sofrem diversos processos no organismo humano, podendo ser excretados na urina ou nas fezes na sua forma inalterada ou metabolizados pelas enzimas de fase I e fase II, dependendo esta metabolização do tipo de fármaco em causa e da dose administrada (Haguenoer et al., 2008; Pinto, 2011). Tratam-se de moléculas desenhadas para serem biologicamente ativas e, mesmo em pequenas quantidades, podem apresentar efeitos agudos ou crónicos quando em contacto com organismos terrestres e aquáticos (Carvalho et al., 2009; Alvarega e Nicoletti, 2010).

A deteção de vestígios de fármacos no ambiente a nível mundial já inclui substâncias como antibióticos, hormonas, anestésicos e anti-inflamatórios, entre outros. Diversos estudos evidenciam a presença deste tipo de fármacos no esgoto doméstico e águas residuais em países como a Alemanha, Espanha, Brasil, Canadá, Holanda, Inglaterra, Itália, Suécia, Reino Unido e também nos Estados Unidos (Bila e Dezotti 2003; Huerta, Rodríguez-Mozaz e Barceló, 2012). Apesar das concentrações detetadas serem reduzidas, estas poderão mesmo assim provocar efeitos nocivos a longo prazo (Rodríguez-Mozaz e Weinberg, 2011; Pinto, 2011; Raimundo, 2007). Os efeitos adversos observados incluem a toxicidade aquática, desenvolvimento de resistências em bactérias patogénicas, genotoxicidade e desregulação endócrina em humanos e animais (Tambosi, 2008).

São cinco os principais locais de ocorrência de fármacos a nível ambiental, nomeadamente: águas de lençóis freáticos (por infiltração de efluentes ou linhas de esgotos), águas de rios (devido ao descarte de esgotos domésticos e industriais não tratados e transporte do solo pela chuva), águas de oceanos (devido principalmente ao contacto com águas de rios), solos (devido ao despejo urbano inadequado ou uso rural) e os sedimentos (pela deposição de componentes ativos insolúveis) (Rodrigues, 2009; Ueda et al, 2009).

Martins de Paiva (2009) realizou um estudo, em que, através da aplicação de um questionário a utentes de farmácias situadas em vários pontos de Portugal, tentou perceber através de que modo os utentes colaboram, ou não, para a minimização do impacte ambiental resultante do descarte de fármacos. No que diz respeito ao descarte de embalagens de medicamentos, 68,03% mencionaram entregá-los na farmácia, no entanto, 20,52% admitiram deitá-los no lixo comum, 2,93% depositá-los em terreno abandonado, 2,35% queimá-los e 1,76% referiram descartá-los na sanita, no lavatório da casa de banho ou no lava-loiça, sendo que 4,41% referiram dar-lhes outros destinos. Após a percepção do modo como os utentes descartavam os medicamentos, tentou-se perceber se havia consciência do impacte ambiental que poderiam estar a causar, sendo que os resultados demonstraram que 76,72% dos utentes relataram possuir alguma informação sobre o efeito negativo ambiental que poderiam estar a provocar, os restantes demonstraram ignorar esse mesmo problema e as consequências das suas ações.

Nos Estados Unidos, país em que a taxa de consumo de medicamentos é muito elevada (WHO, 2004), a recomendação feita pelos centros de toxicologia nos anos 90 era de que o descarte de medicamentos não deveria ser feito para o lixo comum, mas para a rede de esgotos, de modo a evitar intoxicações acidentais por humanos e animais (Glassmeyer et al., 2009). Contudo, com o passar dos anos, e com o surgimento de evidências de que a presença de fármacos na rede sanitária leva mais tarde à sua presença em águas e solos, poluindo o meio ambiente, esta ideia ficou rapidamente desatualizada (Hoppe e Araujo, 2012). E um estudo efetuado nos Estados Unidos em 2008 apoia o facto referido. No sentido de apurar mais factos sobre a contaminação das águas para consumo humano, realizaram-se análises a águas de diferentes zonas do país, e chegou-se à conclusão de que 41 milhões de cidadãos americanos recebem em suas casas água potável contaminada com resíduos farmacêuticos, que incluíam principalmente antibióticos, anti-convulsivantes e hormonas, entre outros. (Carvalho et al., 2009).

De entre os fármacos encontrados frequentemente no meio ambiente, existe um grupo que merece especial destaque: os estrogénios. São fármacos considerados importantes devido ao elevado número de mulheres que os consomem hoje em dia, principalmente em contraceptivos orais (CO) e terapêutica hormonal de substituição. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), no ano de 2009 em Portugal

a prevalência da contraceção era de 67,1% e a pílula o método mais utilizado, estimando-se que 65,9% das mulheres portuguesas optam por este anticoncepcional (Esteves, 2011).

Os estrogénios são hormonas persistentes no meio ambiente que têm a capacidade de interferir no metabolismo e comportamento de determinados organismos, provocando toxicidade, podendo ainda ser responsáveis por causar modificações no sistema endócrino e interferir com o funcionamento normal do mesmo, sendo assim designados por “desreguladores endócrinos” (DE). Os estrogénios podem ser encontrados no meio ambiente em concentrações na ordem dos $\mu\text{g/L}$ e ng/L (Carvalho et al., 2009; Bila e Dezotti 2003; Bila e Dezotti, 2007).

Atendendo a tudo o que foi referido anteriormente, esta monografia pretende efetuar uma revisão da bibliografia existente sobre a presença de estrogénios no meio ambiente, as suas consequências em termos dos efeitos terrestres e aquáticos e identificação de estratégias para a sua deteção e eliminação. O estudo foca-se sobretudo sobre a contaminação a que estão sujeitas as águas superficiais e efluentes de ETARs com a presença destes compostos.

II. ESTROGÉNIOS: AGENTES CONTAMINANTES AMBIENTAIS?

Os estrogénios, quer naturais quer sintéticos, fazem parte do grupo de substâncias que têm o poder de alterar o funcionamento do sistema endócrino. Assim, seguidamente serão descritas algumas características destes compostos, para melhor se entenderem as consequências da sua eliminação para o meio ambiente.

II.1 Estrogénios naturais

Os estrogénios naturais são hormonas esteroides lipofílicas produzidas nos ovários e nos testículos, ocorrendo a sua síntese em tecidos endócrinos e também em não endócrinos tais como o fígado, tecido adiposo e cérebro (Raimundo, 2007). Estes estão presentes predominantemente na mulher e interagem com os recetores celulares específicos de células alvo, regulando principalmente a diferenciação sexual e ajudando no desenvolvimento embrionário, tendo também efeitos ao nível da formação óssea, sistema cardiovascular, imunitário e neurológico, sendo o 17 β -estradiol considerado o mais potente, com alta atividade estrogénica mesmo em concentrações mínimas (Nogueira, 1999).

Em 1900 foi descoberta por Knauer a ligação entre o funcionamento dos ovários e o controlo hormonal, tendo sido encontradas evidências uns anos mais tarde, por Jensen e a sua equipa, da presença de recetores celulares específicos para estrogénios em determinados tecidos alvo (Brunton, Lazo e Parker, 2006).

Existem 3 tipos de estrogénios que estão presentes naturalmente no corpo humano, que são, por ordem de potência, o 17 β -estradiol, a estrona e o estriol. Estes são esteroides, C18, que derivam do colesterol. Cada um dos referidos contem um anel fenólico A, com um grupo hidroxilo no carbono 3 e um β -OH na posição 17 do anel D. Estas hormonas esteroides são produzidas a partir da testosterona, através da aromatização (1ª etapa da sua formação) do anel A, sendo esta reação catalisada pelo complexo enzimático P450 aromatase (ou CYP19) monooxigenase, utilizando como substratos NADPH e oxigénio molecular. A estrona e o estradiol são sintetizados a partir de três reações de hidroxilação seguidas, a primeira por um precursor de androsteniona e a segunda de testosterona como se ilustra na figura seguinte (Martins, 2003; Rang et al., 2004).

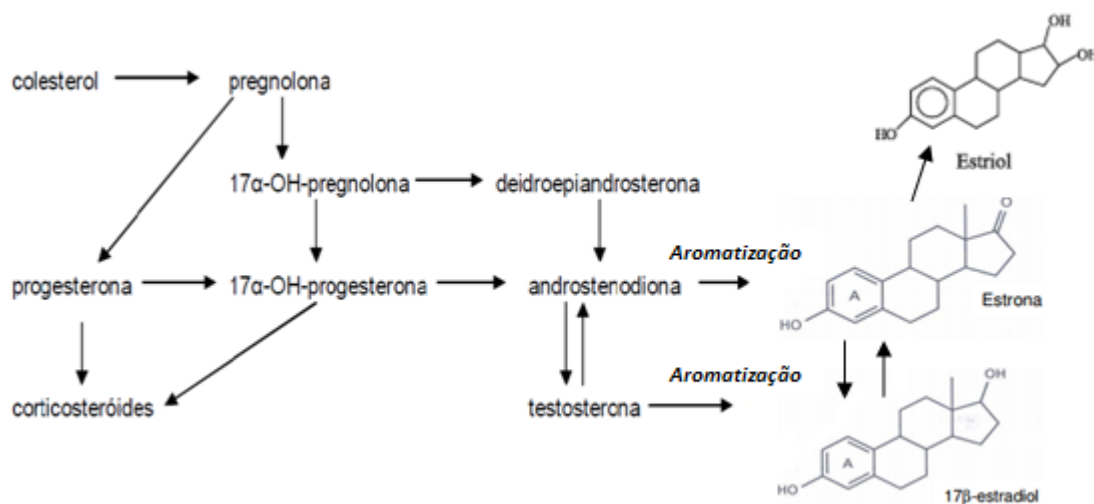


Figura 1: Biossíntese do 17β-estradiol, Estrona e Estriol (adaptado de Martins, 2003 e Arruda, 2011)

A eliminação de estrogénios naturais é feita diariamente, variando ao longo do ciclo de vida do ser humano, com o género, idade e ciclo reprodutivo. Como se pode verificar na Tabela 1, as mulheres para além de produzirem uma maior quantidade de estrogénios, também os excretam em porção superior, principalmente durante a gravidez (Ferreira, 2008; Raimundo, 2007).

Tabela 1. Excreção urinária média diária de estrogénios por humanos (adaptada de Reis Filho et al., 2006).

Excreção µg/24h	17β-estradiol	Estrona	Estriol
Homens ♂	1,6	3,9	1,5
Mulheres em período fértil ♀	3,5	8	4,8
Mulheres na menopausa ♀	2,3	4	1
Mulheres grávidas ♀	259	600	6000

Apesar de os estrogénios naturais terem um tempo de semi-vida entre 2 a 6 dias, são continuamente excretados para o meio ambiente, o que lhes confere um carácter de persistência. Vários estudos mencionam que o 17β-estradiol consegue provocar alterações em concentrações na ordem dos ng/L, enquanto outras substâncias estrogénicas apenas os provocam em concentrações na ordem dos µg/L (Chambel, 2011; Bila e Dezotti, 2007).

II.2 Estrogénios sintéticos

Os estrogénios sintéticos interferem com a ação das hormonas naturais, competindo com estas, imitando ou bloqueando a sua ação, visto que são bastante semelhantes em estrutura e função, sendo apenas necessárias concentrações mínimas dos mesmos para ocorrer estimulação no organismo (Nogueira, 1999). Está provado que estes são mais estáveis em ambientes aquáticos do que os estrogénios naturais, tendo uma maior persistência nos mesmos (Ferreira, 2008).

Encontram-se presentes em diversos métodos contraceptivos, tais como a pílula, o anel vaginal, adesivo transdérmico, implante intradérmico e na terapia hormonal de substituição, sendo, no caso dos CO, excretados principalmente na forma conjugada (ligados ao ácido glucurónico ou sulfúrico) e inativa (Ferreira, 2008; Reis Filho et al., 2006).

Hoje em dia existem diversas versões de contraceptivos orais sintéticos, sendo os mais utilizados uma combinação de estrogénio e progestagénio. O estrogénio sintético mais utilizado e mais potente é o 17 α -etinilestradiol. Este é rápida e completamente absorvido por via oral e extensamente metabolizado a nível hepático, o que resulta numa biodisponibilidade de 45%, sendo eliminado numa proporção urinária/biliar de 4:6, não havendo eliminação da substância inalterada. A sua presença tem sido detetada em níveis consideráveis, principalmente em águas provenientes de afluentes domésticos (Wise, O'Brien e Woodruff, 2011; Infarmed, 2008).

Os estrogénios sintéticos constituintes de CO podem ser eliminados pelo ser humano para o meio ambiente através de vários modos, os principais são através da excreção urinária e da eliminação fecal dos compostos ativos ou conjugados, dependendo isto, no entanto, do indivíduo e do seu metabolismo (Wise et al., 2011). Outra maneira comum de eliminação é através do descarte indevido de anticoncecionais para o esgoto e lixo doméstico, quando se encontram fora de prazo ou quando há descontinuação da terapêutica (Carvalho et al., 2009; Daughton, 2010; Arruda, 2011).

Um exemplo pertinente, para além do descarte de CO, é o do anel vaginal, método contraceptivo cada vez mais utilizado por mulheres hoje em dia, composto por uma elevada concentração de estrogénios e que depois de utilizado ou acaba por ser misturado com o resto dos resíduos domésticos para o lixo comum ou então é deitado fora para as águas sanitárias, acabando por seguir através do curso de água até à rede de

esgotos. Lamentavelmente ainda não existem estudos que retratem este facto e que permitam retirar conclusões sobre a forma de agir relativamente ao descarte do anel vaginal, razão pela qual esta forma de contaminação não será desenvolvida como seria desejável.

II.2.1 Contracetivos orais

A ideia de contraceção já é bastante antiga, remontando à idade média. No entanto, a possibilidade do uso de hormonas para este fim surgiu no século XX, altura em que se descobriu o seu papel na modificação do ciclo menstrual da mulher, tendo sido o primeiro contracetivo aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) e posto no mercado em Maio de 1960 nos Estados Unidos, tendo chegado em 1962 a Portugal, que juntamente com a Alemanha, foi um dos países pioneiros na Europa a aceitar a introdução da pílula no mercado, após o Reino Unido e a Holanda (Junod e Marks, 2002; Costa, 2011; Bayer Healthcare, 2012; Christin-Maitre, 2013).

O primeiro CO teve o nome de Enovid-10® e foi sintetizado pelo Dr. Gregory Pincus, após longos anos de pesquisa. Era composto por 0,150 mg de mestranol e 9,85mg noretisterona, doses bastante mais elevadas relativamente às utilizadas nos dias de hoje, em que se têm vindo a desenvolver formulações com doses cada vez mais baixas. Após o aparecimento deste método contracetivo, rapidamente foram desenvolvidos mais estudos que levaram ao aparecimento de outros e à descontinuação deste primeiro, devido ao aparecimento de sintomas tais como náuseas, retenção de líquidos e tensão mamária, entre outros (Junod e Marks, 2002; Esteves, 2011).

Hoje em dia, estima-se que, mundialmente, mais de 100 milhões de mulheres recorram a contracetivos hormonais orais (Hoffmann e Kloas, 2012). Durante os últimos 50 anos têm sido realizados estudos para que a sua segurança, efetividade e tolerabilidade possam ser melhoradas e para que possam ser utilizados por diferentes grupos e faixas etárias. Atualmente são utilizados tanto para prevenir problemas de saúde, como para prevenir gravidezes indesejadas (Moore, McGuire, Gordon e Woodruff, 2011; Shulman, 2011; Liu, Ogejo, Pruden e Knowlton, 2011).

Os CO são compostos por hormonas sexuais sintéticas, similares às que são produzidas pelo corpo humano. Existem dois tipos principais de CO, a chamada pílula combinada e a pílula constituída apenas por progestagénio. A primeira é a mais utilizada

atualmente e é composta por uma combinação de estrogénio com progestagénio (Rang et al., 2004; Bayer Healthcare, 2012).

As pílulas são classificadas por gerações, de acordo com a concentração de estrogénio que possuem, sendo que a dosagem diminui da primeira para a quarta geração. Tal como se pode verificar na Tabela 2, a pílula de primeira geração tem uma concentração quase oito vezes superior de estrogénio, comparativamente à de quarta geração (Mattos, 2012).

Tabela 2: Descrição da composição de estrogénios de acordo com a geração a que pertence o contraceptivo oral.

Gerações	Dose de Estrogénio
Primeira geração	0,150 mg de etinilestradiol
Segunda geração	0,050 mg de etinilestradiol
Terceira geração	0,030 mg de etinilestradiol
Quarta geração	0,020 mg de etinilestradiol

O estrogénio mais utilizado nas pílulas combinadas é o etinilestradiol, sendo substituído em algumas formulações pelo mestranol. O progestagénio mais comum utilizados em pílulas de “primeira geração” é a noretisterona, nas de “segunda geração” o levonorgestrel, nas de “terceira geração” o desogestrel e o gestodeno e nas de “4ª geração” a drospirenona. O levonorgestrel e o gestodeno são considerados os mais potentes, pois possuem uma menor ação androgénica e interferem menos com o metabolismo das lipoproteínas, tendo no entanto a desvantagem de estarem associados a um maior risco de tromboembolia (Rang et al., 2004; Vigo et al., 2011).

Mecanismo de ação dos contraceptivos orais

Os estrogénios sintéticos atuam através da inibição da secreção da hormona folículo-estimulante (FSH) pela adenohipófise, inibindo consecutivamente o desenvolvimento do folículo ovariano. A função do progestagénio é inibir a secreção da hormona luteinizante (LH), diminuindo deste modo a sensibilidade no ovário à estimulação da FSH, inibindo o estágio final de desenvolvimento do folículo e a ovulação, para além do referido, torna o muco cervical mais denso, dificultando a

passagem de espermatozoides. O estrogénio e o progestagénio têm uma ação sinérgica, fazendo com que não seja criado um ambiente propício no endométrio para a implantação do óvulo (Rang et al., 2004; Esteves, 2011; Christin-maitre, 2013).

De um modo geral, os efeitos provocados pela pílula nas mulheres incluem a redução da produção de hormonas sexuais, supressão da maturação dos óvulos e ovulação e da estimulação do revestimento do endométrio, aumento da formação de muco cervical, formando uma barreira natural contra o esperma e, a ocorrência de uma hemorragia de privação regular e suportável (Bayer Healthcare, 2012).

Para além de prevenirem a conceção, os CO têm outros benefícios, tais como o alívio dos sintomas relacionados com a menstruação, diminuição da anemia, regularização do ciclo menstrual e benefícios a longo prazo, como redução do risco de cancro dos ovários e cancro do endométrio, da doença inflamatória pélvica e diminuição do risco da doença benigna da mama (Shulman, 2011; Esteves, 2011).

Os CO são normalmente bem tolerados por todas as mulheres, podendo provocar alguns efeitos adversos ligeiros, tais como dores de cabeça, náuseas, tensão mamária, ganho de peso (devido à retenção de líquidos) e alterações cutâneas. O risco de ocorrerem complicações mais graves é raro, havendo um risco tromboembólico mais elevado em mulheres que consomem a pílula. A possibilidade da existência de complicações está fortemente aliada ao estilo de vida, obesidade, tabaco e história familiar prévia de problemas cardiovasculares (Shulman, 2011; Bayer Healthcare, 2012). Os problemas referidos reforçam a importância de haver um balanço entre os benefícios e os riscos, tendo de haver uma ponderação individual de acordo com a história clínica de cada mulher, devendo ser escolhida a formulação com a menor concentração hormonal possível e, que ao mesmo tempo, proporcione um bom controlo do ciclo menstrual (Bayer Healthcare, 2012).

Outro método CO disponível no mercado é a chamada “pílula do dia seguinte”, composta por levonorgestrel. Esta deve ser utilizada apenas em situações de emergência, quando existe a hipótese de todos os outros métodos utilizados terem falhado, devendo ser ingerida até 72 horas após a ocorrência da relação sexual em toma única. Está provado que o levonorgestrel não deve ser utilizado durante períodos prolongados, pois pode aumentar significativamente a probabilidade de desenvolvimento de cancro da mama, da vagina, colo do útero e fígado (Arruda, 2011).

II.3 Os estrogénios e o sistema endócrino

O sistema endócrino pode ser definido como uma complexa rede de sinais e mensagens químicas que está presente no Homem e em praticamente todos os animais vertebrados e invertebrados, sendo este responsável por controlar funções e ações corporais, estando em constante interação com o sistema nervoso (Nogueira, 1999). Este sistema é constituído por um conjunto de glândulas especializadas que libertam sinais químicos para o sistema circulatório, atuando em tecidos específicos, designados tecidos alvo, podendo ter um efeito excitatório ou inibitório (Raimundo, 2007; Seeley, 2003, p.584). Os mensageiros químicos são designados de hormonas, sendo estas sintetizadas e segregadas nas glândulas e nas células alvo, que as recebem (Nogueira, 1999).

As principais funções do sistema endócrino incluem a regulação do metabolismo e maturação dos tecidos, regulação iónica, manutenção do equilíbrio hídrico, regulação do sistema imunitário e nervoso, da frequência cardíaca e pressão arterial; controlo da glicose e outros nutrientes presentes no sangue, controlo da função reprodutora, das contrações uterinas e produção de leite (Seeley, Stephens e Tate, 2003, p. 610).

A diversidade de glândulas e hormonas secretadas é vasta, dependendo das mesmas o bom funcionamento do organismo, pelo que uma pequena diferença na concentração de hormonas pode provocar danos irreparáveis, mudanças na interação hormona-recetor e na resposta biológica subsequente, podendo resultar em alterações permanentes na função e forma de vários tecidos. A estas transformações são principalmente suscetíveis organismos na fase embrionária, visto que estas alterações em organismos já em fase adulta poderão não provocar danos imediatamente visíveis, uma vez que já estão completamente desenvolvidos (Chambel, 2011).

A feminização observada em espécies aquáticas nos últimos anos, indicando um possível mecanismo de desregulação endócrina, levou à relação deste fenómeno com a presença de estrogénios em ambientes aquáticos, tendo isto sido atribuído, em parte, ao consumo alargado de CO, suspeitando-se que os mesmos estão a alcançar rios, mares e também a água potável, tendo o poder de provocar danos graves no sistema reprodutivo de seres humanos e espécies animais (Wise et al., 2011; Bjerregaard, 2012 ; Schelenk, 2008).

Entre os estrogénios mais encontrados no meio ambiente destacam-se principalmente o 17 β -estradiol, o 17 α -etinilestradiol e a estrona (Essandoh et al., 2012), sendo estes os principais compostos estrogénios provenientes de afluentes domésticos (Gross-Sorokin, Roaste e Brighty, 2005).

A ação e o destino destes compostos no meio ambiente está intimamente interligada com o seu comportamento no mesmo, sendo este fortemente influenciado pelas suas propriedades físico-químicas, o anel fenólico que lhes confere a atividade estrogénica e o seu grau de partição na água, no solo, e nos organismos biológicos. O coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) determina a afinidade para a matéria orgânica e, conseqüentemente, a solubilidade em água (Ferreira, 2008; Liu et al., 2011).

Os compostos lipofílicos apresentam um K_{ow} mais elevado, enquanto os compostos hidrofílicos apresentam um coeficiente menor. Os estrogénios livres são substâncias hidrófobas que apresentam valores de log K_{ow} mais elevados, entre 2,45 e 4,01, podendo os estrogénios sintéticos apresentar valores superiores a 4, como o 17 β -etinilestradiol, demonstrando alta afinidade para a matéria orgânica e tecidos biológicos (Liu et al., 2011). Este valor pode ser afetado quando os estrogénios se encontram na forma conjugada, pela esterificação com glucuronídeos ou ácidos, tornando-os conseqüentemente mais hidrofílicos e com maior afinidade para ambientes aquáticos, logo com menor atividade biológica e maior persistência no meio aquático (Raimundo, 2007; Ferreira, 2008; Limpiyakorn, Homklin e Ong, 2013).

A sua presença em efluentes de estações de tratamento de águas, águas para consumo e em águas provenientes de esgotos domésticos tem sido observada em diferentes países, dando provas da sua disseminação num dos recursos naturais mais importantes para a vida humana.

Tabela 3. Concentrações médias de estrogénios a nível mundial, em esgotos domésticos, águas superficiais, de consumo e efluentes de ETARs (adaptado de Bila e Dezotti, 2003).

Hormonas	Concentrações médias	Localização
17α-etinilestradiol	0,005 $\mu\text{g/L}$	Esgoto doméstico/Brasil
	0,45 $\mu\text{g/L}$	Água superficial/Alemanha
	0,009 $\mu\text{g/L}$	Efluente de ETAR/ Canadá
	4,5 $\mu\text{g/L}$	Esgoto doméstico/Suécia
	2 $\mu\text{g/L}$	Efluente de ETAR/Suécia
17β-estradiol	0,015 $\mu\text{g/L}$	Esgoto doméstico/Alemanha
	0,006 $\mu\text{g/L}$	Efluente de ETAR/Canadá
	0,021 $\mu\text{g/L}$	Esgoto doméstico/Brasil
	0,009-0,16 $\mu\text{g/L}$	Água natural/E.U.A
	2,7-48 $\mu\text{g/L}$	Efluente de ETAR/Inglaterra
Estrona	0,02-0,05 $\mu\text{g/L}$	Água superficial/Brasil
	0,04 $\mu\text{g/L}$	Esgoto doméstico/Brasil
	0,7-1,6 ng/L	Água superficial/Alemanha
	0,027 $\mu\text{g/L}$	Água natural/ E.U.A
Estriol	2-4 ng/L	Efluente de ETAR/Inglaterra
	1,2-3,1 ng/L	Água natural/Inglaterra
	24-188 ng/L	Esgoto doméstico/Itália
	0,019 $\mu\text{g/L}$	Água natural/E.U.A

Otomo et al. (2010) consideram que os estrogénios são substâncias com particular interesse como contaminantes ambientais pois são “compostos potencialmente ativos no sistema biológico, que estão relacionadas com a origem de diversos tipos de cancro, e que são continuamente introduzidos no ambiente.” Estes chegam ao meio ambiente principalmente através da excreção humana de urina e fezes, sendo diretamente introduzidos no curso de água através da rede de esgotos, contaminando consequentemente águas superficiais, subterrâneas e, por ineficácia do tratamento executado nas ETARs para este tipo de compostos, acabam por alcançar a água potável (Wen, 2006; Tong, Peake e Braund, 2011).

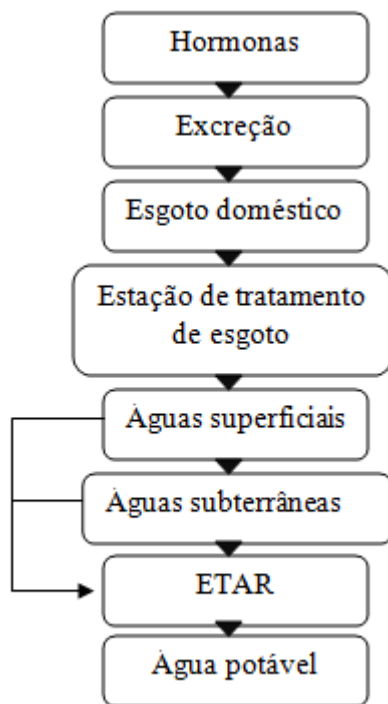


Figura 2: Circuito de contaminação das hormonas no sistema sanitário até alcançarem a água potável (adaptado de Ferreira, 2008).

A capacidade de resposta das ETARs a este tipo de contaminantes é considerada limitada, acabando por ser encaminhados para os meios onde a mesma dirige o seu efluente final. O meio aquático acaba por ser o destino final de vários tipos de resíduos humanos, incluindo os referidos estrogénios, meio este onde vivem espécies cujos organismos necessitam de determinadas condições para manterem a homeostase, sendo que alterações mínimas no seu habitat podem afetar a reprodução da espécie e a probabilidade de sobrevivência (Proença, 2011; Lages, 2011; Harris, Hamilton, Runnalls, Vinciotti, Henshaw, Hodgson, Sumpter, 2011).

II.4 Desreguladores endócrinos

Nogueira (1999) define os DE como “todas as substâncias ou misturas de substâncias exógenas, capazes de assumir idêntica função de uma hormona natural nos seres vivos ou inibir o funcionamento normal da mesma, alterando as funções do sistema endócrino e consequentemente, prejudicar a saúde do organismo, da sua prole, ou de uma (sub) população.”

Outra definição que ilustra a sua natureza foi dada pela Environmental Protection Agency (US EPA), que caracteriza o DE como “um agente exógeno que interfere com a síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormonas naturais no corpo, sendo estas responsáveis pela manutenção da homeostase reprodução, desenvolvimento e comportamento dos organismos” (Chambel, 2011; Raimundo 2007; Reis Filho et al., 2007)

Os DE englobam um conjunto de substâncias presentes no meio ambiente às quais têm sido atribuídos vários efeitos nefastos, que têm afetado tanto o Homem como várias espécies aquáticas (Sumpter e Johnsson., 2005; Zhang, Yamada e Tsuno, 2008; Chen, Ying, Yang, Zhao e Wang, 2010; Essandoh et al, 2012). Os seus efeitos não dependem somente das concentrações no meio ambiente, mas também de outros fatores tais como a sua natureza, lipofilicidade, persistência, estabilidade, bioacumulação, tempo de exposição, fatores genéticos, tipo de interação, mecanismos de biotransformação e de excreção. O seu principal veículo de dispersão são os sistemas aquáticos, destacando-se assim a importância da monitorização dos mesmos (Nogueira 1999; Bila e Dezotti, 2007; Raimundo, 2007).

Bila e Dezotti (2007) referem que os DE podem ser agrupados em duas classes distintas: substâncias sintéticas e substâncias naturais. As substâncias sintéticas incluem algumas substâncias utilizadas na agricultura, tais como pesticidas, herbicidas e fungicidas; substâncias usadas na indústria, tais como dioxinas, alquifenois, ftalatos, metais pesados; e compostos farmacêuticos como os estrogénios sintéticos (dietilestilbestrol (DES), 17 α -etinilestradiol, mestranol). As substâncias naturais incluem os fitoestrogénios (genisteína e metaresiol) e os estrogénios naturais (17 β -estradiol, estrona, estriol). Dentro desta vasta lista vamos apenas debruçar-nos sobre os estrogénios naturais e sintéticos, sendo estes últimos também denominados por xenoestrogénios (Chambel, 2011).

Os estrogénios são considerados por alguns autores os DE que provocam os efeitos mais nocivos no meio ambiente (Essandoh et al, 2012; Auriol, Filali-Meknassi, Adams, Tyagi, Noguerol e Piña, 2008), sendo os estrogénios sintéticos bastante usados como CO e na terapêutica hormonal de substituição. Os estrogénios naturais são diariamente excretados na urina humana e assim, eliminados para o esgoto doméstico, sendo a estrona e o 17 β -estradiol considerados os maiores responsáveis pela atividade estrogénica nas estações de tratamento de resíduos (Nogueira, 1999).

Para além dos estrogénios naturais e sintéticos, a agricultura e a pecuária são dois setores que também têm a sua quota de responsabilidade na eliminação de estrogénios para o meio ambiente, através da utilização de fezes de animais para fertilização de solos, havendo posterior transferência para os lençóis de água existente no solo, contaminando águas subterrâneas. Os animais para além de eliminarem principalmente 17β -estradiol, estrona, estriol e os respetivos compostos conjugados (Chambel, 2011), também eliminam outro tipo de hormonas que lhes são prescritas para a promoção do seu crescimento e desenvolvimento num curto espaço de tempo (Wise et al., 2011; Bila e Dezotti, 2007).

A indústria farmacêutica é outra fonte de libertação deste tipo de resíduos, apesar de estarem implementadas fortes medidas de contenção ambientais, ainda continua a ocorrer a eliminação de quantidades mínimas de substâncias ativas para o meio ambiente, devido à devolução e recolha de medicamentos do mercado, descarte de medicamentos rejeitados pelo controlo de qualidade e perdas nos processos de fabrico (Dias, 2011; Falqueto, Kligerman e Assumpção, 2010).

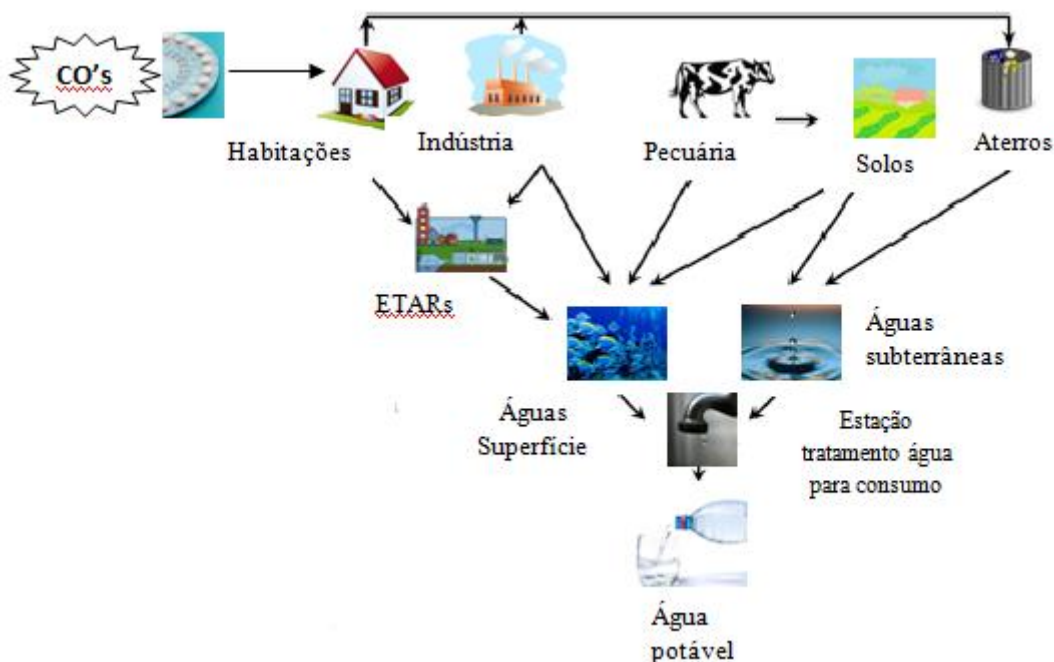


Figura 3: Pontos de entrada dos estrogénios para o meio ambiente, até ao seu destino final (adaptado de Wise et al., 2011)

O evento histórico que relacionou os estrogénios com a definição de DE ocorreu entre os anos de 1947 e 1971, em que foram prescritas doses de DES, um potente estrogénio sintético, a milhares de grávidas a nível mundial. Este fármaco foi prescrito na altura para evitar abortos e para promover o crescimento fetal. Após algum tempo, veio a descobrir-se que esta hormona provocou alterações na fertilidade e reprodução das crianças que foram expostas durante a gravidez. Este efeito a longo prazo do DES após a exposição prematura no ser humano serviu como um alerta relativamente aos efeitos que os DE podem provocar no organismo (Janex-Habibi, Huyard, Esperanza e Bruchet 2009; Sanchez, 2006).

Tem-se também vindo a verificar que a exposição aos DE provoca efeitos adversos que incluem alterações fisiológicas e histológicas que provocam anomalias no sistema reprodutivo de animais tais como peixes, répteis e pássaros, indução da síntese de vitelogenina no plasma de machos e extinção de diversas espécies devido ao fenómeno de feminização. Na saúde humana observaram-se efeitos nefastos tais como a diminuição da produção de esperma, infertilidade e aumento da incidência de determinados tipos de cancro (Nogueira, 1999; Bila e Dezotti, 2007).

Mecanismo de ação dos DE no organismo

Ao interagirem com o sistema endócrino, os DE podem interferir com diversas funções vitais do organismo, podendo imitar, bloquear ou provocar a destruição das hormonas esteroides. Apesar dos mecanismos através dos quais isto acontece ainda não estarem totalmente esclarecidos, poderão estar relacionados com interferência na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormonas naturais do organismo, conduzindo isto a uma resposta hormonal distinta do habitual, através da ligação a recetores hormonais (Nogueira, 1999; Chambel, 2007).

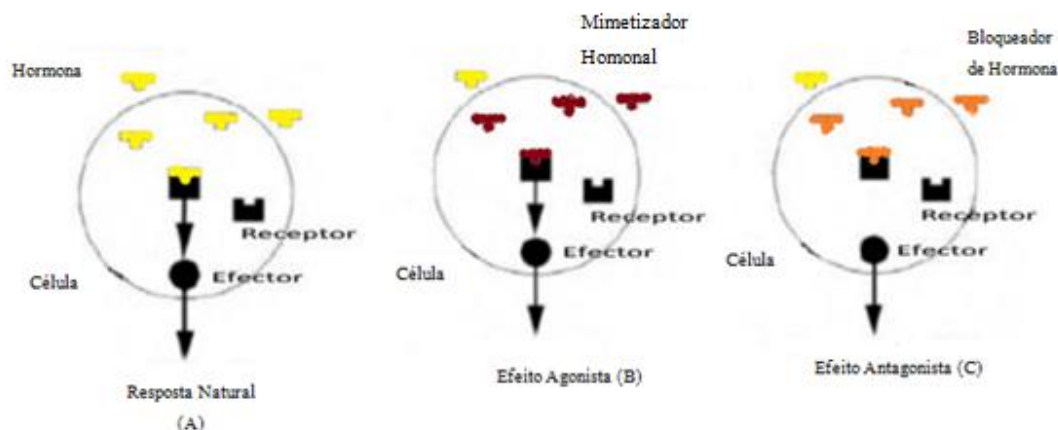


Figura 4: Mecanismo de desregulação endócrina (adaptado de Chambel, 2007).

A imagem A da figura 4 representa a ação normal de uma hormona natural no organismo, ligando-se a recetores para os quais tem afinidade em determinados tecidos-alvo, dando origem a uma resposta biológica específica, consoante o tecido e local do organismo em que se encontra. Na imagem B da figura 4 pode-se observar o efeito de um composto hormonal sintético que se liga ao recetor imitando a ação biológica de uma hormona natural, levando o organismo a desencadear um estímulo falso durante um tempo inapropriado, provocando alterações biológicas no organismo. Por último a imagem C da figura 4 ilustra o contrário da anterior, um efeito antagonista, em que o composto hormonal sintético bloqueia o recetor, reduzindo ou anulando por completo o estímulo que era suposto ocorrer em condições normais em determinado local do organismo, resultando assim na ausência de uma resposta biológica (Nogueira, 1999; Chambel, 2007; Raimundo, 2007).

Os potenciais efeitos provocados pelos DE têm sido tema de pesquisas e discussões internacionais, de modo a tentar perceber se existem evidências significativas que demonstrem esses efeitos nefastos e se existem níveis suficientemente altos no meio ambiente que os possam causar. Com o intuito de desenvolver estratégias e solucionar os problemas relacionados com a presença de DE no meio ambiente, várias organizações têm mobilizado esforços para combater a circulação dos mesmos e para tentar desvendar até que ponto e em que concentrações estes possuem efeitos nocivos (Bila e Dezotti, 2007).

O Environmental Risk Assessment (ERA), um programa de avaliação do risco ambiental desenvolvido pela European Medicines Agency (EMA) e a FDA, é um dos

exemplos da preocupação relativa aos efeitos dos DE no ambiente. Este programa tem vindo a promover medidas para a contenção da contaminação ambiental por resíduos químicos provocados por fármacos, reduzindo assim a exposição humana e a proteção de espécies animais que possam estar em perigo. Tem como objetivo a avaliação da probabilidade de ocorrência de efeitos adversos ambientais, submetendo a avaliação todos os medicamentos que são postos no mercado, para avaliar o seu impacto e potenciais riscos (Lages, 2011).

O programa ERA divide-se em duas fases distintas, na primeira fase é feita uma análise ao fármaco em si, analisando a potencial exposição do meio ambiente, sem considerar vias de administração, formas farmacêuticas, metabolismo e excreção, pondo de lado alguns compostos já bastante conhecidos que não necessitam de avaliação, como é o caso de vitaminas, aminoácidos, proteínas e eletrólitos, vacinas e medicamentos fitoterápicos, sabendo-se que não constituem qualquer risco ambiental. Após esta primeira fase a avaliação pode ser dada como terminada ou então prosseguir. A segunda fase já tem em conta as propriedades físico-químicas, farmacológicas e toxicológicas do fármaco, considerando o seu potencial de bioacumulação e de ecotoxicidade, avaliando o seu destino e efeitos ambientais dos respetivos metabolitos (Figura 5) (Lages, 2011; Pinto, 2011).

Todos os compostos lipofílicos ou que têm o poder de provocar alterações endócrinas, tais como hormonas sintéticas, capazes de provocar efeitos nocivos mesmo em concentrações mínimas, são sempre submetidos à fase dois, independentemente da quantidade que está presente no meio ambiente (Pinto, 2011).

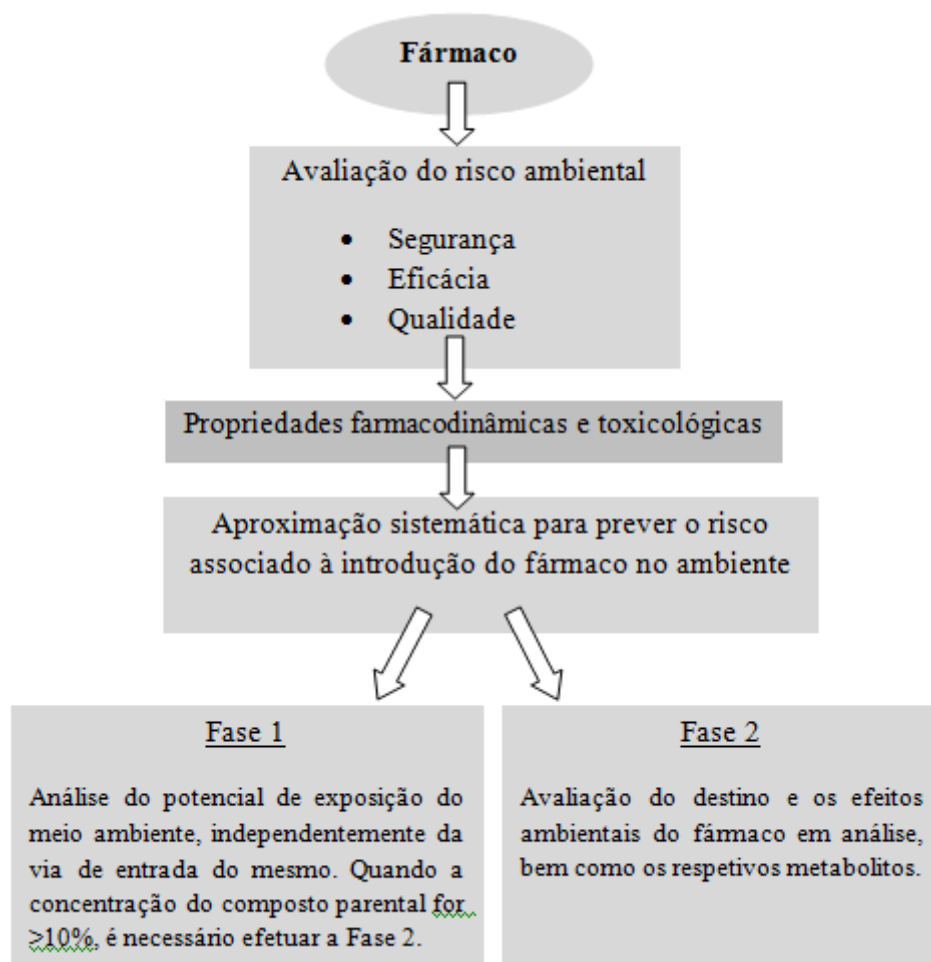


Figura 5: Descrição das etapas do programa desenvolvido pela EMA para avaliação do risco ambiental provocado por fármacos (adaptado de Pinto, 2011).

III. EXPOSIÇÃO E IMPACTE AMBIENTAL

As evidências da presença de estrogénios no meio ambiente não são propriamente recentes, remontando as primeiras há cerca de 30 a 40 anos atrás, quando se começaram a observar características incomuns em determinadas espécies (Filho et al., 2007).

Na Europa, por volta do início da década de 1980 foram relatadas por pescadores britânicos a presença de características sexuais incomuns (hermafroditismo) em peixes da espécie *Rutilus rutilus*, que habitavam uma lagoa próxima do local de descarga de uma estação de tratamento de efluentes (Reis Filho et al., 2007; Alvarega e Nicoletti, 2010), no entanto, só mais tarde a origem deste tipo de efeitos observados começaram a ser mais aprofundadamente investigados.

Mais recentemente, Karen Kidd e a sua equipa desenvolveram durante sete anos num lago em Ontario, Canadá, um estudo relativo aos efeitos provocados pela exposição crónica a concentrações mínimas (5-6 ng/L) do potente estrogénio sintético 17 α -etinilestradiol numa espécie de peixes (*Pimephales promelas*), tendo ocorrido ao fim desse tempo a extinção da espécie em questão, devido aos fenómenos de feminização ocorridos, influenciando negativamente o sucesso reprodutivo e a sustentabilidade da espécie (Kidd et al., 2007).

Visto este tipo de fármacos se tratarem de compostos biologicamente ativos, o risco associado à sua exposição deve ser considerado não apenas em função da sua ação, mas também em função do tempo de exposição (Pinto, 2011). Relativamente a efeitos provocados em seres humanos ainda pouco se sabe, uma das evidências já relatadas inclui a exposição de grávidas ao estrogénio sintético DES utilizado para a prevenção de abortos espontâneos, que provocou a longo prazo nas filhas das mulheres expostas esterilidade e, em algumas, um tipo raro de cancro vaginal, nos filhos foram observadas anomalias nos órgãos genitais, diminuição da produção de espermatozoides e tendência para o desenvolvimento de cancro nos testículos. Foi então também demonstrado que o ser humano exposto a este tipo de contaminantes durante a fase embrionária apresenta uma maior probabilidade de desenvolver anomalias comparativamente a indivíduos já em fase adulta (Hammes e Laitman, 2003; Lauver, Nelles e Hanson, 2004; Raimundo, 2007).

Pensa-se também que a exposição a hormonas esteroides possa estar relacionada com o início de tumores (Huang, Phillips e Hunter, 2007) ou com a progressão dos já existentes, contribuindo estas para a proliferação celular e aumento da probabilidade de ocorrência de mutações durante a síntese de DNA. As disfunções provocadas no sistema reprodutivo podem também provocar irregularidades no ciclo menstrual, alterações na fertilidade, endometriose e ovários policísticos (Bila e Dezotti, 2007). No caso dos homens, a exposição pode dar origem a ginecomastia, diminuição da libido, impotência, diminuição dos níveis de androgénios no sangue e diminuição da produção de espermatozoides (Ferreira, 2008).

III.1 Vitelogenina

Têm sido demonstradas através de vários estudos as consequências da exposição de organismos vivos a determinadas concentrações de estrogénios, entre elas foi provado o aumento da síntese de vitelogenina (Gross-Sorokin et al., 2005; Harris et al., 2011; Kitamura, Komori, Miyajima, Higashitani, Nakada e Suzuki, 2007; Cotton e Wedekind, 2008; Lu, Song, Wang e Yan, 2010; Limpiyakorn et al., 2011).

A vitelogenina é uma fosfolipoglicoproteína produzida nos hepatócitos de fêmeas ovíparas vertebradas adultas, durante a maturação dos oócitos. A transcrição do seu RNAm é ativada por estrogénios, principalmente pelo 17β -estradiol, após ligação com o recetor nuclear. O vitelo é um constituinte do ovo, composto por nutrientes, como lípidos e proteínas, sendo este utilizado pelo embrião até que este seja capaz de se alimentar. Após a sua síntese e exocitose nos hepatócitos, a vitelogenina é transportada para a corrente sanguínea e levada até aos ovários, onde é incorporada pelo oócito e subsequentemente utilizada para formar o vitelo (Sanches, 2006; Werner, Waltier, Evans, Baron, Kidd e Palace, 2003; Kidd et al. 2007; Yan et al 2012).

Os níveis de vitelogenina podem também ser influenciados através da interferência de outras substâncias com ação estrogénica, sendo considerada um biomarcador de exposição, utilizada para monitorização dos níveis em que as mesmas substâncias estão presentes no ambiente, pois a sua presença no sangue indica o contacto com substâncias estrogénicas (Bjerregaard, 2012; Moncaut, Nostro e Maggese, 2003; Sanchez, 2006). Normalmente é apenas encontrada em fêmeas, no entanto,

evidencia-se a indução da sua síntese em machos que estiveram expostos a ambientes poluídos com estrogénios (Werner et al., 2003).

Os machos também possuem o gene que codifica para a vitelogenina, no entanto, este não se encontra ativo devido aos níveis bastante reduzidos na circulação sanguínea do 17 β -estradiol (Moncaut et al., 2003). Nestes, a vitelogenina não pode ser incorporada nas gónadas, como acontece nas fêmeas, levando isto a uma acumulação da mesma no plasma (Werner et al., 2003; Lu et al., 2010). O aumento da concentração plasmática de vitelogenina em machos é assim considerado um indicador da contaminação da água com compostos estrogénicos (Moraes, Grando, Valerio e Oliveira, 2008).

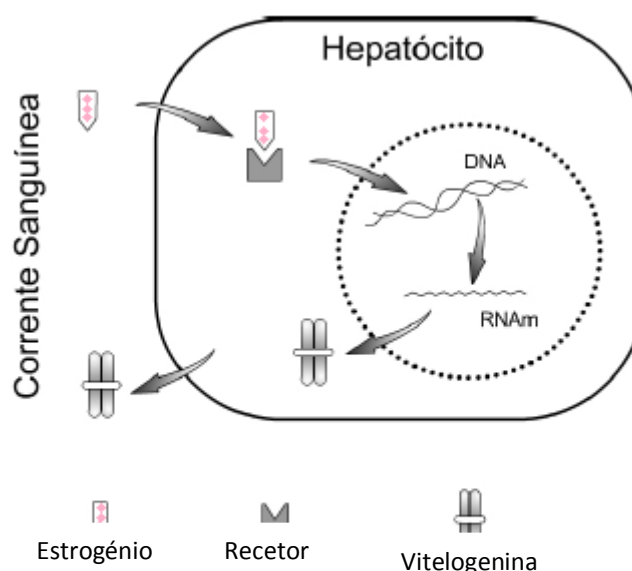


Figura 6: Representação esquemática da síntese de vitelogenina em peixes machos, provocada pela exposição a estrogénios (adaptado de Reis Filho et al., 2006).

No estudo de Routledge, Sheahan, Desbrow, Brighty, Waldock e Sumpter (1998) foram verificadas as consequências da exposição de 2 espécies de peixes, durante 21 dias, a concentrações de 17 β -estradiol e estrona consideradas ambientalmente relevantes (1, 10 e 100 ng/L), sendo as espécies escolhidas *Oncorhynchus mykiss* e *Rutilus rutilus*. Os resultados comprovaram que as concentrações de estrogénios identificadas nos afluentes domésticos foram suficientemente elevadas para induzir a síntese de vitelogenina nestas espécies.

Mais recentemente, Kitamura et al. (2007) expuseram propositalmente uma espécie japonesa de peixes, *Oryzias latipes*, a determinadas concentrações de estrona e 17 β -estradiol. Verificou-se que os níveis de vitelogenina aumentaram ao longo dos 14 dias, concluindo-se que estes são dependentes da concentração de estrogénios presentes no meio, ou seja, uma maior concentração de estrogénio provoca uma maior indução da síntese de vitelogenina.

Os níveis de vitelogenina no plasma podem ser medidos através de várias técnicas, diretas ou indiretas, tais como radioimunoensaio, eletroforese, *northern blot* e *western blot*. Estas são técnicas sensíveis, no entanto consideradas dispendiosas, tendo em conta que são morosas e que são necessários anticorpos específicos para cada espécie animal (Sanchez, 2006).

Segundo Bila e Dezotti (2003) e Tambosi (2008), os peixes são um dos grupos de organismos vivos melhor estudados no que diz respeito à exposição a substâncias estrogénicas e aos efeitos provocados no sistema reprodutivo, no entanto, existem outros estudos que referem também os efeitos provocados noutras espécies, tais como aves, répteis e mamíferos. Temos o exemplo de tartarugas da espécie *Chrysemys complanata* em que foram observadas alterações na produção de ovos e em mexilhões da espécie *Elliptio complanata* observaram-se anomalias no crescimento da concha.

Visto os peixes serem a espécie mais estudada relativamente a esta problemática, várias consequências são referidas para os que se provou estarem em contacto com substâncias estrogénicas comparativamente aos que vivem em ambientes não poluídos, entre elas são referidos sinais evidentes de hermafroditismo (desenvolvimento de cavidades de ovários e oócitos), acompanhado de alteração no funcionamento e diminuição no tamanho das gónadas (Brion, Tyler, Palazzi, Laillet, Porcher, Garric e Flammarion, 2004; Werner et al., 2003) redução da produção e da densidade de esperma, assim como a diminuição da fertilização de ovos pelos mesmos (Harris et al 2011; Moncaut et al 2003; Schelenk, 2008), afetando deste modo o desenvolvimento, a taxa de sobrevivência e o sucesso reprodutivo das espécies em questão (Harris et al., 2011; Yan et al 2012).

III.2 Métodos de deteção e quantificação

Para a avaliação dos efeitos provocados poder ser realizada é importante a deteção e quantificação das substâncias estrogénicas no meio ambiente. Tendo em conta o facto de serem substâncias presentes em concentrações baixas, o que dificulta todo o processo, têm de ser utilizados métodos mais sensíveis que consigam detetar quantidades mínimas na ordem dos $\mu\text{g/L}$ e ng/L . É também indispensável a clarificação da origem da contaminação ambiental por este tipo de compostos, de modo a que a origem da problemática possa ser descoberta e o problema tratado “de raiz”, considerando aspetos tanto ambientais como económicos (Bila e Dezotti 2003; Reis Filho et al., 2007).

O desenvolvimento de técnicas mais eficazes na deteção de fármacos e derivados começou por volta dos anos 90, apesar da presença dos mesmos principalmente em organismos aquáticos já ter sido detetada algumas décadas antes como referido (Lajes, 2011).

Os imunoensaios como ELISA ou EIA são métodos de deteção de atividade estrogénica. Estes métodos são rápidos, sensíveis e altamente específicos, tendo, no entanto, a desvantagem de apresentarem limites de deteção reduzidos (Nogueira, 1999; Bila e Dezotti 2007).

A figura 7 ilustra os dois passos principais que ocorrem num imunoensaio. No primeiro ocorre imobilização de um recetor específico para um determinado composto estrogénico num suporte. De seguida a amostra em estudo é adicionada, amostra esta que contém estrogénios e anticorpos, seguindo-se um tempo de incubação de algumas horas; por fim é adicionada uma solução de deteção que sinalize a presença do composto alvo por exemplo através da emissão de fluorescência, consoante aquilo que se pretende (Nogueira, 1999).

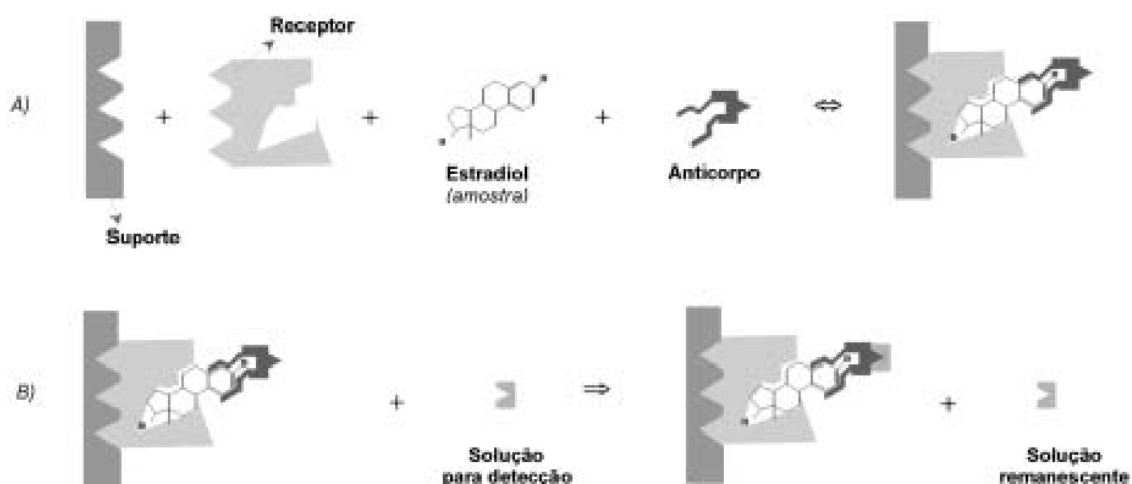


Figura 7. Exemplo de um imunoenensaio para detecção de substâncias estrogênicas (Nogueira, 1999).

Outros métodos passíveis de detetar substâncias estrogênicas, para além dos métodos biológicos, são os métodos de separação como a cromatografia. Normalmente é feita uma complementaridade entre um método biológico e um método cromatográfico, utilizando o método ELISA aliado à cromatografia líquida (HPLC) ou cromatografia gasosa (CG) (Kozíík, Bosáková, Tesarová, Coufal e Cabala, 2011), sendo estas duas últimas as técnicas mais comuns usadas na detecção deste tipo de contaminantes (Chen et al., 2010; Huerta et al., 2012).

A cromatografia gasosa capilar associada à espectrometria de massa (CGC/MS) ou associada à espectrometria de massa em tandem (CGC-MS/MS) é, neste momento, considerada uma das técnicas analíticas mais evoluídas e vantajosas utilizadas para o fim descrito, sendo considerada robusta, abrangente, reprodutível e sensível, utilizada principalmente na análise de estrogénios naturais em amostras de urina, tecidos orgânicos e amostras ambientais (Liu et al., 2011). A única desvantagem, no entanto, é ser necessária uma conversão dos analitos em derivados mais voláteis (derivatização) de modo a aumentar a estabilidade, para evitar a decomposição térmica e melhorar a separação cromatográfica, através de um passo inicial de pré-concentração (Martínez, Pereira, Bertolino, Scheneider, Messina e Raba, 2012). Como agentes de derivatização são utilizados compostos como o N-Metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida (MSTFA), o N-(tert-butildimetilsilil)-N-metil-trifluoroacetamida (MTBSTFA) e o N,O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA), sendo estes três referidos como os mais comuns (Liu et al., 2011).

Ao contrário da cromatografia gasosa, a cromatografia líquida também aliada à espectrometria de massa (HPLC/MS) ou associada à espectrometria de massa em tandem (HPLC-MS/MS), não necessita do primeiro passo referido, permitindo uma análise direta dos estrogénios em amostra, sendo assim considerada vantajosa relativamente à primeira, apresentando-se assim como sendo o método de quantificação de estrogénios mais popular (Kózlík et al., 2011). Como desvantagem demonstrou um menor nível de sensibilidade quando são utilizadas amostras de águas menos limpas tais como águas residuais (Trinh, Harden, Coleman e Khan, 2011).

III.3 Tratamento e eliminação

Stumm-Zollinger e Fair foram dos primeiros autores a publicar, em 1965, evidências de que o tratamento feito a águas residuais não era suficientemente eficaz para a remoção de compostos estrogénicos das mesmas (Chambel, 2011). Assim sendo, em muitos países começaram a ser implementadas orientações acerca do descarte de medicamentos para evitar a sua presença nos meios hídricos, canalizando assim o seu descarte para o sistema de resíduos sólidos urbanos (Lages, 2011).

A taxa de remoção de fármacos numa ETAR é variável, pois depende de determinados fatores, tais como o processo de tratamento utilizado, da estação do ano, temperatura, intensidade da luz solar, propriedades físico-químicas dos compostos, do tempo de retenção hidráulica e da localização geográfica da estação de tratamento. Para a eliminação de um fármaco ser considerada completa na amostra em estudo, é necessário haver eliminação não apenas da substância ativa mas também dos seus metabolitos, sendo convertido completamente em sais inorgânicos, ocorrendo mineralização total, que pode ser avaliada através da medição dos níveis de dióxido de carbono (Pinto, 2011). São previstos três destinos possíveis para um fármaco numa ETAR: pode ser biodegradado (mineralizado a gás carbónico e água), parcialmente degradado, ou ser persistente, não sofrendo qualquer alteração (Raimundo, 2007).

Nas tabelas 4 e 5 encontram-se descritos os tipos e fases de tratamento realizadas numa ETAR, bem como a descrição detalhada de cada uma das fases.

Tabela 4: Descrição dos três tipos de tratamento convencional numa ETAR (adaptado de Gama, 2012).

Tipos de tratamento	Método
Tratamento Físico	Adsorção por carvão ativado, centrifugação, destilação, filtração, floculação, sedimentação, ultrafiltração, eletrodialise, troca iônica, adsorção em material polimérico, osmose reversa, arraste por ar.
Tratamento Químico	Catálise, hidrólise, neutralização, oxidação, redução, precipitação.
Tratamento Biológico	Lodo ativado, tratamento enzimático, digestão anaeróbia.

Tabela 5: Fases de tratamento numa ETAR (adaptado de Lages, 2011).

Fases de Tratamento	Descrição
Preliminar	Remoção de sólidos de maior dimensão (utilização de grades e crivos), remoção de areia, gorduras, madeiras e outros materiais flutuantes.
Primário	Processos físico-químicos: pré-arejamento, equalização do caudal, neutralização da carga do efluente, separação de partículas líquidas e sólidas por floculação, adsorção e sedimentação. As lamas resultantes são sujeitas a digestão anaeróbia num tanque.
Secundário	Tratamentos biológicos seguidos de físico-químicos. Biológicos: tratamento de partículas finas em suspensão e remoção de resíduos por microrganismos através da fermentação mecânica. Físico-químicos: sedimentação de flocos biológicos, removendo por completo todos os sólidos ainda presentes.
Terciário	Remoção dos microrganismos patogénicos e desinfecção da água através da adsorção com carvão ativado e eventualmente cloro e radiação UV.

Os processos tradicionais de tratamento de efluentes, não são, de maneira geral, por si só, suficientemente eficazes para a remoção de substâncias com ação estrogénica (Arruda, 2011; Verbinnen, Nunes e Vieira, 2010; Li Puma, Puddu, Tsang, Gora e Toepfer, 2010; Durigan, Vaz e Peralta-Zamora, 2012; Marinho, 2012). Trata-se de moléculas difíceis de eliminar, tendo em conta que se encontram presentes em concentrações baixas e que oferecem resistência química devido à sua estrutura (Durigan et al., 2012). Por tudo isto, têm-se vindo a reunir esforços para encontrar outros métodos que se revelem mais eficazes. Pretende-se que para além de promoverem a sua remoção promovam também a sua completa mineralização, tais como os processos avançados de oxidação (PAO) (Arruda, 2011).

Os PAO inserem-se nos processos químicos de tratamento de efluentes em que ocorrem reações de oxidação redução, utilizando como intermediários das mesmas agentes oxidantes como por exemplo o ozono (O_3), o cloro (Cl_2) e o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), entre outros (Arruda, 2011; Silva, Otero e Esteves, 2012). São considerados processos limpos, em que não há formação de subprodutos sólidos e não há transferência de fases dos poluentes, como acontece nos processos convencionais. Baseiam-se na formação de radicais hidroxila (OH) que oxidam de forma não seletiva compostos estrogénicos até à sua completa mineralização, transformando-os em dióxido de carbono e água em tempos relativamente curtos. Estes podem ser classificados em fotoquímicos (que utilizam a luz UV para formar radicais OH) e não fotoquímicos (Tabela 6) (Dias, 2011; Marinho, 2012).

Tabela 6: Tipos de processos avançados de oxidação (adaptada de Arruda, 2011).

Tipo de Oxidantes	Processo Avançado de Oxidação	
H_2O_2/Fe^{2+}	Fenton	Processos não fotoquímicos
H_2O_2/Fe^{3+}		
O_3/H_2O_2	Ozonização com peróxido	
$TiO_2/UV/O_2$	Fotocatálise	Processos fotoquímicos
$H_2O_2/Fe^{2+}/Fe^{3+}/UV$	Foto-Fenton	
O_3/UV	Ozonização com UV	
H_2O_2/UV	Fotólise com peróxido	

III.3.1 Processo de Fenton

Este método tem este nome pois foi observado por Fenton pela primeira vez em 1894 (Tambosi, 2008; Gama, 2012). A reação de Fenton é uma reação espontânea em que há decomposição do H_2O_2 catalisada pelo Fe^{2+} em condições ácidas à temperatura ambiente, havendo formação de radicais OH que vão ser os responsáveis pela eliminação de compostos estrogénicos. Tem como vantagens o facto dos reagentes (ferro e peróxido de hidrogénio) serem compostos acessíveis do ponto de vista

económico, não apresentam riscos ambientais e são de fácil manuseio e também o facto de ser possível a utilização de radiação solar em vez de luz artificial, reduzindo assim os custos associados ao processo (Marinho, 2012).

Uma das possíveis desvantagens é a formação de precipitados de $\text{Fe}(\text{OH})_3$, sendo necessária a eliminação dos lodos de ferro formados finalizada a reação e a neutralização e o facto da quantidade de matéria orgânica presente na amostra poder reduzir a eficiência do processo (Gama, 2012). Esta reação exige um controlo rigoroso de pH (entre 2 e 4) que condiciona o seu sucesso, devido à possibilidade de formação de precipitados de óxido de ferro em gamas de pH superiores a 4 (Marinho, 2012; Arruda, 2011).

III.3.2 Ozonização

O método de ozonização é relativamente recente na remoção deste tipo de compostos, sendo já considerado uma técnica promissora na eliminação de estrogénios (Hansen, Handersen e Ledin, 2010). Neste processo é utilizado um gás, o ozono, um potente agente oxidante de ação rápida que ataca todos os componentes orgânicos em solução, mas que possui, no entanto, um tempo de semivida de escassos minutos, sendo instável em água pois apresenta baixa solubilidade na mesma, levando a limitações de transferência de massa (Ferreira, 2008). Neste processo de remoção de estrogénios em amostras aquosas é utilizado um gerador de ozono, uma coluna de contato e um analisador de ozono em fase gasosa. Após a realização deste método, a quantidade de estrogénios ainda presentes na amostra é avaliada através de cromatografia de extração por fase sólida e cromatografia gasosa. A utilização de raios UV e de H_2O_2 torna esta técnica ainda mais vantajosa, permitindo-lhe ter a capacidade de mineralizar uma grande variedade de compostos, mesmo os que oferecem uma maior resistência devido à sua estrutura química, como os estrogénios (Arruda, 2011).

A quantidade removida de estrogénios e os custos são diretamente proporcionais à quantidade de ozono utilizada e à qualidade do efluente a ser tratado, sendo os níveis de ozono medidos por adsorção UV (Hansen et al., 2010; Bila e Dezotti, 2007). Este método é eficaz na remoção de todo o tipo de substâncias estrogénicas, sendo geralmente utilizadas doses baixas de ozono, estando estas entre os 2-3,5 mg/L na maioria dos casos (Hansen et al., 2010). É um procedimento que está diretamente

dependente do pH do meio, da concentração do analito e da quantidade de oxigénio consumido, ocorrendo à temperatura e pressão ambientes, promovendo uma remoção rápida e completa dos poluentes na maioria dos casos, sendo uma tecnologia comprovada para tratamento de águas (Tambosi, 2008).

Como desvantagens é considerada a PAO de maior impacte ambiental e maior custo, tendo em conta que obriga ao consumo de níveis elevados de energia e oxigénio, utilizada na conversão de oxigénio em ozono no gerador e custos relacionados com os equipamentos necessários (Arruda, 2011; Dias, 2011). Apesar de ser considerado dos tratamentos mais eficazes, demonstrou em alguns estudos a formação de produtos de degradação, cuja toxicidade ainda não é totalmente conhecida (Tambosi, 2008)

III.3.3 Fotocatálise

A fotocatálise pode ser de dois tipos, homogénea ou heterogénea, dependendo se o catalisador se encontra ou não na mesma fase da solução, respetivamente. Este processo pode utilizar dióxido de titânio (TiO_2), óxido de zinco (ZnO) e óxido de ferro (Fe_2O_3), entre outros. A fotocatálise que utiliza TiO_2 tem sido empregue com grande sucesso na remoção de estrogénios (Silva et al., 2012). Este catalisador tem uma elevada estabilidade, é barato, não tóxico, insolúvel em água e pode ser reutilizado, apresentando um menor impacte ambiental (Ferreira, 2008). O oxigénio necessário para a reação pode ser obtido na atmosfera e a fonte de fotões pode ser solar, permitindo a utilização de energia renovável a baixo custo. Como desvantagens apresenta o facto de a taxa de degradação ser alta se forem utilizadas grandes áreas de superfície do fotocatalisador e esta depende do tempo de exposição do efluente à radiação, existindo uma maior eficiência quando o processo é realizado em meio ácido (Arruda, 2011).

III.3.4 Foto Fenton

Esta técnica combina a aplicação de radiação ultravioleta com uma reação de fenton já referida. Pode exibir uma maior eficiência na degradação, tendo em conta que a fotólise do peróxido de hidrogénio contribui para a aceleração na produção de radicais OH (Tambosi, 2008; Silva et al, 2012).

III.3.5 Oxidação fotoquímica

Nesta técnica é criada uma reação fotoquímica através da interação de luz natural ou artificial e a molécula alvo, levando à degradação direta da última. A eficiência deste tratamento é maior quando combinado com H_2O_2 , tendo em conta que este é um potente oxidante, originando radicais OH na dissociação fotolítica, facilitando assim a degradação dos compostos (Dias, 2011).

III.3.6 Fotólise com peróxido

No processo de fotólise ocorre a degradação de compostos por ação da luz ou radiação UV, para uma maior eficiência é utilizada em combinação com H_2O_2 . Tem como vantagens o facto de poder ser uma técnica utilizada num leque alargado de poluentes, e de ser uma reação fácil de executar, não tóxica e com baixos custos associados. O peróxido de hidrogénio é bastante acessível economicamente, boa estabilidade térmica, boa solubilidade em água e é atóxico, sendo que cada molécula deste forma dois radicais OH. Como desvantagens temos o facto da taxa de oxidação química do contaminante ser limitada pela taxa de formação dos radicais OH e de se ter de utilizar uma lâmpada de xenon para aumentar a eficiência do processo, tendo isto custos adicionais associados (Roloff, 2007; Arruda, 2011).

Tabela 7: Resultados de estudos efetuados utilizando PAO na eliminação de estrogénios.

Composto	Método de eliminação	Método de deteção	Eficácia	Referência
17 β -estradiol	Ozonização	1º EFS 2º CG/EM	100%	Bila et al., 2005
E1, E2, E3 e EE2	Fotocatálise TiO_2	HPLC	E2, E3 e EE2- 60% E1- 98%	Puma et al., 2010
17 α -etinilestradiol 17 β -estradiol	Fotólise H_2O_2	HPLC	>90%	Rosenfeldt e Linden, 2004
17 β -estradiol	Foto-Fenton	HPLC e SPE	Mineralização praticamente completa após 20 min de reação	Durigan et al., 2012

Os PAO são processos bastante vantajosos na eliminação de compostos estrogénios de amostras aquosas, promovendo, em condições específicas, a completa ou quase completa mineralização destes compostos. Podem ser utilizados como pré-tratamento de efluentes, por exemplo em águas consideradas tóxicas, antes de introduzidos os processos tradicionais de limpeza, ficando assim presentes apenas os intermediários biodegradáveis, tratados posteriormente nos reatores biológicos; ou em pós-tratamento, se a água não tiver compostos tóxicos, podendo o tratamento biológico ser efetuado em primeiro lugar removendo a fração biodegradável, procedendo-se depois à oxidação química (Arruda, 2011).

III.4 VALORMED

A VALORMED é uma Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos licenciada, desde 2007, pelo Ministério do Ambiente e da Economia para gerir um Sistema Integrado de Recolha de Embalagens e Medicamentos (SIGREM). A VALORMED foi criada através de uma parceria entre a indústria farmacêutica, distribuidores e farmácias. Tem como objetivo a recolha segura de medicamentos, evitando que estes sofram o mesmo tratamento que outros resíduos urbanos.

A VALORMED é responsável pela recolha de resíduos provenientes de farmácia comunitária e farmácia hospitalar, bem como de embalagens veterinárias e resíduos de embalagens gerados nas atividades industriais das empresas farmacêuticas e nas distribuidoras de medicamentos. As recolhas estão subdivididas em quatro tipos de resíduos: tipo I - resíduos equiparados a urbanos e que não apresentam exigências especiais no seu tratamento; tipo II - resíduos hospitalares não perigosos que não estão sujeitos a tratamentos específicos podendo ser equiparados a urbanos; tipo III - resíduos hospitalares de risco biológico, contaminados ou suspeitos de contaminação, suscetíveis de incineração ou de outro pré-tratamento eficaz, permitindo posterior eliminação como resíduo urbano; tipo IV - resíduos hospitalares específicos de incineração obrigatória. Os dois primeiros grupos são considerados não perigosos, enquanto que os segundos são considerados perigosos (VALORMED, 2013).

Todo o material recolhido em contentores próprios cedidos pela empresa é alvo de um processo de triagem e seleção, sendo reencaminhado para reciclagem todas as

embalagens que são suscetíveis a este tipo de tratamento, tal como o papel e o cartão; o resto dos resíduos, que incluem os medicamentos, são encaminhados para incineração a altas temperaturas (VALORMED, 2013).

Os dados de atividade da VALORMED relativos a 2011 apontam para uma recolha de 854 toneladas de resíduos de embalagens de medicamentos, 96% das quais são provenientes do subsistema das farmácias e 4% do subsistema veterinário, comprovando assim o grande sucesso e aderência que este sistema tem tido (VALORMED, 2013).

A figura seguinte ilustra o funcionamento do SIGREM, dando evidência aos fluxos materiais bem como aos fluxos financeiros.

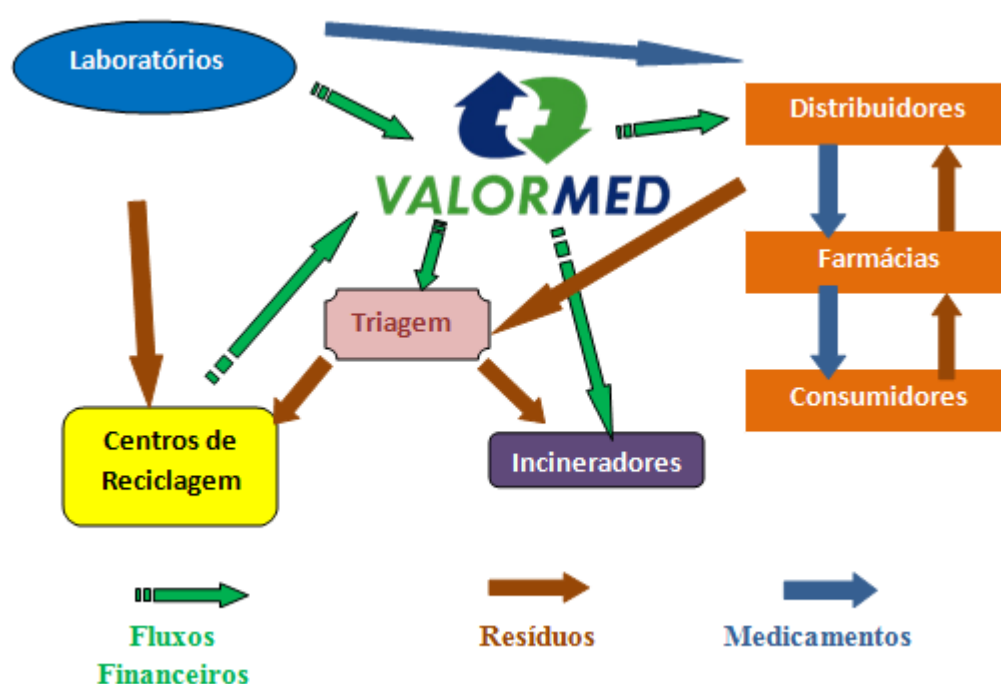


Figura 8: Funcionamento do processo VALORMED para as embalagens de medicamentos de uso humano.

IV. CONCLUSÃO

Com a pesquisa bibliográfica efetuada, pode-se constatar que existem múltiplos estudos que relatam e comprovam a contaminação das águas superficiais e efluentes de estações de tratamento de águas residuais por múltiplos compostos, incluindo diversos grupos de fármacos, sendo os estrogénios um dos grupos de fármacos com grande relevância.

Concluiu-se que a presença de substâncias estrogénicas nos sistemas de água, mesmo em concentrações mínimas, pode ter efeitos nocivos, tanto para a saúde humana como animal, apesar de ainda existir alguma escassez de dados conclusivos relativamente a humanos. Os contraceptivos orais são contaminantes ambientais de importante relevância, que para além de serem considerados micropoluentes, encontrando-se presentes no ambiente em concentrações mínimas, têm o poder de provocar efeitos devastadores.

No futuro é importante a clarificação dos níveis de estrogénios considerados seguros no meio ambiente e a monitorização dos níveis de fármacos já presentes e continuamente enviados para o mesmo, sendo o papel da profissão farmacêutica fundamental na promoção do uso correto dos medicamentos e na orientação do descarte correto de resíduos.

De acordo com algumas recomendações dadas pela OMS, a adoção de determinadas medidas e comportamentos é essencial para a redução do risco de exposição humana a contaminantes ambientais, sendo essencial evitar o consumo de águas que não tenham um controlo analítico apertado relativamente à qualidade, tendo também em atenção a origem dos alimentos que se consomem no dia-a-dia.

Devem ser implantados de futuro processos de tratamento de substâncias estrogénicas seguros, eficazes e viáveis economicamente em todas as estações de tratamento, tendo em conta que as tecnologias atualmente utilizadas não são suficientemente eficazes para a eliminação completa das mesmas. Até agora não estão relatadas evidências de esforços mobilizados a nível nacional para evitar a disseminação destes compostos no meio aquático, identificando e quantificando os mesmos.

Apesar de em Portugal já existir legislação que suporta e incentiva o correto descarte de fármacos pela população, existindo sistemas como a VALORMED, é

necessário fazer a informação chegar a um maior número de pessoas, através da divulgação de campanhas de sensibilização, sendo também necessário o aumento dos pontos de recolha, para além das farmácias.

A mudança de mentalidade da população e modificação de determinados hábitos são urgentes, de modo a promover a diminuição da geração de resíduos a todos os níveis, mas principalmente de resíduos farmacêuticos. É necessária assim uma aposta na educação ambiental de todos os cidadãos, através do desenvolvimento de mecanismos eficazes para que o descarte dos mesmos seja feito nos locais corretos para tal, minimizando o impacto na saúde humana e ambiental.

V. BIBLIOGRAFIA

- Alvarega, LSV & Nicoletti, MA (2010). Descarte doméstico de medicamentos e algumas considerações sobre o impacte ambiental decorrente. *Revista saúde*, v.4 n.3, pp.34–39.
- Arruda, B. C., (2011). *Novas Alternativas para remoção de contaminantes emergentes presentes em efluentes urbanos por processos avançados de oxidação*. Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Auriol, M., Filali-Meknassi, Y., Adams, C. D., Tyagi, R. D., Noguero, T.-N., & Piña, B. (2008). Removal of estrogenic activity of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater: efficiency of horseradish peroxidase and laccase from *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, v.70 n.3, pp.445–52. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.06.064
- Bayer Healthcare (2012). Oral Contraceptives in Perspective. Acedido em: <http://mmsa.org.mt/wp-content/uploads/2010/12/Bayer-HealthCare-Oral-Contraceptives-in-Perspective.pdf>, a 20 de Agosto de 2013.
- Bila, D. M. & Dezotti, M. (2007). Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. *Quim. Nova*, v.30 n.3, pp.651–666. Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- Bila, D. M & Dezotti, M. (2003). Fármacos no meio ambiente. *Quim. Nova*, v. 26 n.4, pp. 523–530. Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- Bjerregaard, P. (2012). Estrogen mimicking effects of xenobiotics in fish. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.54(Suppl 1), S12. doi:10.1186/1751-0147-54-S1-S12.
- Boron, W. F. & Boulpaep, E. L., (2012). *Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach*. 2nd Edition, Elsevier.
- Brion, F., Tyler, C. R., Palazzi, X., Laillet, B., Porcher, J. M., Garric, J., & Flammarion, P., (2004). Impacts of 17beta-estradiol, including environmentally relevant concentrations, on reproduction after exposure during embryo-larval-, juvenile- and adult-life stages in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, v.68 n.3, pp.193–217. doi:10.1016/j.aquatox.2004.01.022.
- Brunton, L. L., Lazo, J. S. & Parker, K. L., (2006). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11^o Edição. Mc Graw Hill. ISBN 0-07-142280-3.

Carvalho, E. V., Ferreira, E., Mucini, L., & Santos, C. (2009). Aspectos legais e toxicológicos do descarte de medicamentos, (14). *Revista brasileira de toxicologia* 22, n.1-2 (2009) 1-8, SP, Brasil.

Chambel, J. H. M., (2011). *Contribuição para o estudo da remoção em ETAR de 17 β -estradiol e de 17 α -etinilestradiol no tratamento biológico*. (Tese de Mestrado). Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.

Chen, F., Ying, G.-G., Yang, J.-F., Zhao, J.-L., & Wang, L. (2010). Rapid resolution liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of endocrine disrupting chemicals (EDCs), pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in wastewater irrigated soils. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, v.45 n.7, pp.682–693. doi:10.1080/03601234.2010.502446.

Christin-Maitre, S. (2013). History of oral contraceptive drugs and their use worldwide. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, v.27 n.1, pp. 3–12. doi:10.1016/j.beem.2012.11.004.

Costa, C. S. P., (2011). *Contraceptivos Orais*. Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade do Algarve.

Cotton, S., & Wedekind, C., (2009). Population consequences of environmental sex reversal. *Conservation biology: the journal of the Society for Conservation Biology*, v.23 n.1, pp.196–206. doi:10.1111/j.1523-1739.2008.01053.x.

Daughton, C. G. (2010). *Drugs and the Environment: Stewardship & Sustainability*. (Tese de Doutorado). U.S. Environmental Protection Agency, Las Vegas.

Dias, J. A. F., (2011). *Tratamento de Efluentes da Indústria Farmacêutica por Processos Avançados de Oxidação*. (Tese de Mestrado). Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Bragança, Bragança.

Durigan, M. A. B., Vaz, S. R. & Peralta-Zamora, P., (2012). Degradação de poluentes emergentes por processos fenton e foto-fenton. *Quim. Nova*, v.35, n.7, pp.1381-1387.

Essandoh, H. M. K., Tizaoui, C., & Mohamed, M. H. A. (2012). Removal of Estrone (E1), 17 β -Estradiol (E2) and 17 α -Ethinylestradiol (EE2) During Soil Aquifer Treatment of a Model Wastewater. *Separation Science and Technology*, v. 47 n.6, pp.777–787. doi:10.1080/01496395.2011.644618.

Esteves, A. F. S. (2011). *Noções e Dinâmica da Utilização dos Contraceptivos Orais*. (Tese de Mestrado). Universidade da Beira Interior, Covilhã.

Falqueto, E., Kligerman, D. C. & Assumpção, R. F., (2010). Como realizar o correto descarte de resíduos de medicamentos? How to do the correct discard of medicine

residues ? *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 15(sup.2), pp. 3283–3293. Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

Ferreira, M. G. M., (2008). *Remoção da Atividade Estrogénica de 17 β -Estradiol e de 17 α -Ethinilestradiol pelos Processos de Ozonização e O₃/H₂O₂*. (Tese de Doutoramento). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

Gama, M. R. (2012). Processos Fenton como Alternativa na Remoção de Interferentes Endócrinos e outros Micropoluentes Ambientais. *Rev. Virtual Quim.* v. 4 n.6, pp.777–787.

Glassmeyer, S. T., Hinchey, E. K., Boehme, S. E., Daughton, C. G., Ruhoy, I. S., Conerly, O., Thompson, V. G. (2009). Disposal practices for unwanted residential medications in the United States. *Environment international*, v.35 n.3, pp.566–72. doi:10.1016/j.envint.2008.10.007.

Gross-Sorokin, M. Y., Roast, S. D., & Brighty, G. C. (2005). Assessment of Feminization of Male Fish in English Rivers by the Environment Agency of England and Wales. *Environmental Health Perspectives*, v.114(S-1), pp.147–151. doi:10.1289/ehp.8068.

Hammes, B., & Laitman, C. J., (2003). Diethylstilbestrol (DES) update: Recommendations for the identification and management of DES-exposed individuals. *Journal of Midwifery & Women's Health*, v.48 n.1, pp.19–29. doi:10.1016/S1526-9523(02)00370-7.

Haguenoer, J. M., Rouban, A., Aurousseau, M., Bohuon, C., Bourillet, F., Bourrinet, P., Velo, G., (2008). Médicaments et Environnement. *Académie Nationale de Pharmacie*.

Hansen, K. M. S., Andersen, H. R., & Ledin, A., (2010). Ozonation of estrogenic chemicals in biologically treated sewage. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research*, v.62 n.3, pp.649–57. doi:10.2166/wst.2010.919.

Harris, C. A., Hamilton, P. B., Runnalls, T. J., Vinciotti, V., Henshaw, A., Hodgson, D., Sumpter, J. P., (2011). The consequences of feminization in breeding groups of wild fish. *Environmental health perspectives*, v. 119 n.3, pp.306–11. doi:10.1289/ehp.1002555.

Hoffmann, F., & Kloas, W., (2012). The synthetic progestogen, Levonorgestrel, but not natural progesterone, affects male mate calling behavior of *Xenopus laevis*. *General and comparative endocrinology*, v.176 n.3, pp.385–90. doi:10.1016/j.ygcen.2012.02.009.

- Hoppe, T. R. G., Araújo, L. E. B., (2012). Contaminação do meio ambiente pelo descarte inadequado de medicamentos vencidos ou não utilizados, v.6 n.6, pp.1248-1262.
- Huang, Y.W., Phillips, J. R., & Hunter, L. D., (2007). Human exposure to medicinal, dietary, and environmental estrogens. *Toxicological & Environmental Chemistry*, v.89 n.1, pp.141–160. doi:10.1080/02772240600952141.
- Huerta, B., Rodríguez-Mozaz, S., & Barceló, D., (2012). Pharmaceuticals in biota in the aquatic environment: analytical methods and environmental implications. *Analytical and bioanalytical chemistry*, v. 404 n.9, pp.2611–24. doi:10.1007/s00216-012-6144-y.
- Infarmed (2008). Acedido em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=4089&tipo_doc=rcm, a 22 de Setembro de 2013.
- Janex-Habibi, M.-L., Huyard, A., Esperanza, M., & Bruchet, A. (2009). Reduction of endocrine disruptor emissions in the environment: the benefit of wastewater treatment. *Water research*, v.43 n.6, pp.1565–76. doi:10.1016/j.watres.2008.12.051.
- Junod, S. W., & Marks, L. (2002). Women ' s Trials : The Approval of the United States and Great Britain, (57).
- Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M., & Flick, R. W., (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.104 n.21, pp.8897–901. doi:10.1073/pnas.0609568104.
- Kitamura, K., Komori, K., Miyajima, K., Higashitani, T., Nakada, N. & Suzuki, Y., (2007). Effect of estrogenic activity in river water and treated wastewater on feminization of Japanese Medaka. *AWRA 2007 Summer Specialty Conference, Colorado*. pp. 25-28.
- Kozlík, P., Bosáková, Z., Tesařová, E., Coufal, P., & Cabala, R., (2011). Development of a solid-phase extraction with capillary liquid chromatography tandem mass spectrometry for analysis of estrogens in environmental water samples. *Journal of chromatography. A*, v. 1218 n.15, pp.2127–32. doi:10.1016/j.chroma.2010.10.033.
- Lages, A. S. (2011). *Presença ambiental de resíduos de fármacos: fontes, concentrações, efeitos potenciais e formas de tratamento*.(Tese de Mestrado). Universidade Fernando Pessoa, Porto.
- Lauver, D., Nelles, K. K., & Hanson, K. (2004). The health effects of diethylstilbestrol revisited. *Journal of obstetric, gynecologic, and neonatal nursing : JOGNN / NAACOG*, v.34 n.4, pp.494–9. doi:10.1177/0884217505278293.

- Li Puma, G., Puddu, V., Tsang, H. K., Gora, A., & Toepfer, B., (2010). Photocatalytic oxidation of multicomponent mixtures of estrogens (estrone (E1), 17 β -estradiol (E2), 17 α -ethynylestradiol (EE2) and estriol (E3)) under UVA and UVC radiation: Photon absorption, quantum yields and rate constants independent of photon absorption. *Applied Catalysis B: Environmental*, v.99 n.3-4, pp.388–397. doi:10.1016/j.apcatb.2010.05.015.
- Limpiyakorn, T., Homklin, S., & Ong, S. K., (2011). Fate of Estrogens and Estrogenic Potentials in Sewerage Systems. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v.41 n.13, pp.1231–1270. doi:10.1080/10643380903488680.
- Liu, Z., Ogejo, J. A., Pruden, A., & Knowlton, K. F., (2011). Occurrence, fate and removal of synthetic oral contraceptives (SOCs) in the natural environment: a review. *The Science of the total environment*, v.409 n.24, pp.5149–61. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.08.047.
- Lu, G. H., Song, W. T., Wang, C., & Yan, Z. H. (2010). Assessment of in vivo estrogenic response and the identification of environmental estrogens in the Yangtze River (Nanjing section). *Chemosphere*, v.80 n.9, pp.982–90. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.05.038.
- Marinho, B. A., (2012). *Estudo da potencialidade da fotocatalise heterogénea e dos processos fenton para degradação de micropoluentes em águas residuárias (esgoto tratado)*. (Tese de Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Departamento de Química, Brasil.
- Martínez, N. A., Pereira, S. V, Bertolino, F. A., Schneider, R. J., Messina, G. A. & Raba, J., (2012). Electrochemical detection of a powerful estrogenic endocrine disruptor: ethinylestradiol in water samples through bioseparation procedure. *Analytica chimica acta*, v.723, pp.27–32. doi:10.1016/j.aca.2012.02.033.
- Martins, M. I. M., (2003). *A Reposição de estrogénio diminui o dano oxidativo, aumenta a atividade das enzimas antioxidantes e melhora a função cardíaca em ratas*. (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Porto Alegre.
- Martins de Paiva, O. J., (2009). *Estudo ecotoxicológico de medicamentos e outros químicos de farmácias*. (Tese de Mestrado), Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Aveiro.
- Mattos, J. M., (2012). *Pílulas anticoncepcionais*. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- Moraes, N. V., Grando, M. D., Valerio, D. A. R., & Oliveira, D. P. (2008). Exposição ambiental a desreguladores endócrinos: alterações na homeostase dos hormônios esteroidais e tireoideanos, v.1, pp.1–8.
- Moncaut, N., Nostro, F. Lo, & Maggese, C., (2003). Vitellogenin detection in surface mucus of the South American cichlid fish *Cichlasoma dimerus* (Heckel , 1840) induced by estradiol-17 b . Effects on liver and gonads, v.63, pp.127–137.
- Moore, K., McGuire, K. I., Gordon, R., & Woodruff, T. J., (2011). Birth control hormones in water: separating myth from fact. *Contraception*, v.84 n.2, pp.115–8. doi:10.1016/j.contraception.2011.04.014.
- Nogueira, J. M. F. (1999). Desreguladores Endócrinos: Efeitos Adversos e Estratégias para Monitorização dos Sistemas Aquáticos, pp. 65-71.
- Otomo, J. I., Martins, E. A. J., Souza, R. R., Furusawa, H. A. & Pires, M. A. F., (2010). Avaliação de estrógenos nas águas destinadas ao abastecimento público na região do rio Paraíba do Sul , SP .2º Congresso Internacional de Tecnologias para o meio ambiente, Centro de Química e Meio Ambiente.
- Pinto, E. A. (2011). *Impacte ambiental dos Medicamentos*.(Tese de Mestrado). Universidade Fernando Pessoa, Porto.
- Proença. P. N. P., (2011). *Resíduos de medicamentos: estudo de caso sobre comportamentos , atitudes e conhecimentos*.(Tese de Mestrado), Universidade Aberta, Coimbra.
- Raimundo, C. C. M. (2007). *Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia*.(Tese de Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M. & Moore, P. K., (2004). Farmacologia. Tradução da 5ª Edição Americana. Elsevier.
- Reis Filho, R. W., Araújo, J. C. & Vieira, M., (2006). Hormônios Sexuais Estrogénos: Contaminantes Bioativos. *Quim. Nova*, v.29 n.4, pp. 817-822.
- Reis, Filho; Luvizotto-Santos & Vieira (2007). Poluentes Emergentes como Desreguladores Endócrinos. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v. 2, n. 3, pp. 283-288.
- Rodrigues, C. R. B., (2009). *Aspectos legais e ambientais do descarte de resíduos de medicamentos*. Programa de pós-graduação em Engenharia de Produção, Universidade Tecnológica federal do Paraná, Ponta Grossa.

Rodriguez-Mozaz, S., & Weinberg, H. S. (2010). Meeting report: Pharmaceuticals in water- An interdisciplinary approach to a public health challenge. *Environmental health perspectives*, v. 118 n.7, pp.1016–20. doi:10.1289/ehp.0901532.

Roloff, G. A., (2007). *Degradação do hormônio estradiol por eletrólise, fotólise e fotoeletrocatalise*. (Tese de Mestrado), Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Routledge, E. J., Sheahan, D., Desbrow, C., Brighty, G. C., Waldock, M., & Sumpter, J. P. (1998). Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 2. In Vivo Responses in Trout and Roach. *Environmental Science & Technology*, v.32 n.11, pp.1559–1565. doi:10.1021/es970796a.

Sanchez, D. C. O. (2006). *Desreguladores endócrinos na indução da vitelogenina em peixes nativos*. (Tese de Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Schlenk, D. (2008). Are steroids really the cause for fish feminization? A mini-review of in vitro and in vivo guided TIEs. *Marine pollution bulletin*, v. 57 n.6-12, pp.250–4. doi:10.1016/j.marpolbul.2008.01.008.

Seeley, R. R., Stephens, T. D. & Philip, T. (2003). *Anatomia & Fisiologia*. 6ª Edição. Lusociência. ISBN: 972-8930-07-0.

Shulman, L. P., (2011). The state of hormonal contraception today: benefits and risks of hormonal contraceptives: combined estrogen and progestin contraceptives. *American journal of obstetrics and gynecology*, v. 205 n.4, S9–13. doi:10.1016/j.ajog.2011.06.057.

Silva, C. P., Otero, M., & Esteves, V., (2012). Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: a review. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, v.165, pp.38–58. doi:10.1016/j.envpol.2012.02.002.

Sumpter, J. P., & Johnson, A. C., (2005). Critical Review Lessons from Endocrine Disruption and Their Application to Other Issues Concerning Trace Organics in the Aquatic Environment, *American Chemical Society*, v.39 n.12,pp. 4321–4332.

Tambosi, J. L. (2008). *Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento* (Tese de Doutorado). Universidade federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Florianópolis, Brasil.

Trinh, T., Harden, N. B., Coleman, H. M., & Khan, S. J. (2011). Simultaneous determination of estrogenic and androgenic hormones in water by isotope dilution gas

chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography. A*, v. 1218 n.12, pp.1668–76. doi:10.1016/j.chroma.2011.01.068

Ueda, J., Tavernaro, R., Marostega, V. & Pavan, W. (2009). Impacto ambiental do descarte de fármacos e estudo da conscientização da população a respeito do problema, *Revista Ciências do Ambiente*, v. 5, n. 1.

VALORMED, 2013. Acedido em: <http://www.valormed.pt/>, a 20 de Setembro de 2013.

Verbinnen, R. T., Nunes, G. S. & Vieira, E. M., (2010). Determinação de hormônios estrogénos em água potável usando CLAE-DAD. *Quim. Nova*, v.33 n. 9, pp. 1837-1842.

Wen, H. (2006). Removal of Estrone from Water with Adsorption and UV Photolysis.(Tese de Mestrado), *Environmental Institute Engineering at WorcesterPolytechnic Institute*.

Werner, J., Wautier, K., Evans, R. E., Baron, C. L., Kidd, K., & Palace, V. (2003). Waterborne ethynylestradiol induces vitellogenin and alters metallothionein expression in lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, v.62 n.4, pp.321–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12595171>.

World Health Organization (WHO), 2004. The World Medicines Situation.

Wise, A., O'Brien, K. & Woodruff, T., (2011). Are oral contraceptives a significant contributor to the estrogenicity of drinking water?. *Environmental science & technology*, v. 45 n.17, 7605; author reply 7606–7. doi:10.1021/es201802r.

Yan, Z., Lu, G., Liu, J., & Jin, S. (2012). An integrated assessment of estrogenic contamination and feminization risk in fish in Taihu Lake, China. *Ecotoxicology and environmental safety*, v.84, pp.334–40. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.08.010.

Zhang, H., Yamada, H., & Tsuno, H. (2008). Removal of endocrine-disrupting chemicals during ozonation of municipal sewage with brominated byproducts control. *Environmental science & technology*, v.42 n.9, pp.3375–80. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18522121>.